



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Evaluación del depósito de productos de secreción-excreción de larvas somáticas de
Toxocara canis en las lesiones producidas por el parásito en animales con infección
inducida tratados con selamectina**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

IVÁN PÉREZ LUNA

ASESOR: M. en C. JAVIER ALEJANDRO BUENDÍA JIMÉNEZ

COASESOR: M. en C. JUAN PABLO MARTÍNEZ LABAT



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L. A. ARAGÓN HERNÁNDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

"Evaluación del depósito de productos de secreción-excreción de larvas somáticas de *Toxocara canis* en las lesiones producidas por el parásito en animales con infección inducida tratados con selamectina"

que presenta el pasante: Iván Pérez Luna
con número de cuenta: 096085488 para obtener el título de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Septiembre de 2008

PRESIDENTE Dr. Juan Antonio Montaraz Crespo

VOCAL M. en C. Jorge Alfredo Cuellar Ordaz

SECRETARIO M. en C. Javier Alejandro Buendía Jiménez

PRIMER SUPLENTE M. en C. Alejandro Sánchez Pacheco

SEGUNDO SUPLENTE MVZ Ismael Hernández Ávalos

[Handwritten signatures of the board members]

Agradecimientos

A mi familia

Gracias, por todo el apoyo, el sacrificio, por el amor incondicional y sobretodo por creer en mí. Gracias Facundo (papá), Rosario (mamá) é Yesica (monis) y sin olvidar a la chikis y monona (mi perro y mi gato).

A mis amigos

Gracias, por compartir las días mas completos de mi vida, por aceptarme como persona y humano. Gracias Rocio, Rogelio, Ismael, Sebastian, Javier, Fernando, Denise, Alma, Alejandro, Agustin, Tabata, Mauricio, Juan Carlos, etc.

A Selene

Gracias, por iniciar esta aventura.

A Miriam

Gracias, por cosechar los frutos de este trabajo; te amo.

A los profesores de parasitología y Depto de Ciencias Biológicas.

Gracias, por ser compañeros durante estos últimos años. Gracias a Gloria, Meliton, Rocio, Dr. Fernando Alba, Gabriela Fuentes, Dr. Susana, los tres Marcos de micro, Elpí, Melena, Rosario, Dr. Humberto Alejandro, los dos Gerardos y todos los que me faltan.

A M. en C. J. Alejandro

Gracias, por el apoyo y la enseñanza en la elaboración en este trabajo. Sobretodo por ser un amigo.

A M. en C. J. Pablo

Gracias, por ser un mentor y por la oportunidad de desarrollarme como profersor. Gracias.

A la Universidad

Por la oportunidad de ser parte de la mejor univerisidad del país y formarme como profesionista. Gracias.

ÍNDICE

Resumen	IV
Introducción	1
Hipótesis de trabajo	21
Objetivos	22
Materiales y métodos	23
Resultados	30
Discusión	45
Conclusiones	51
Apéndice	52
Referencias	53

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue determinar la influencia de los depósitos de antígenos de secreción y excreción de *Toxocara canis* en la evolución de las lesiones que provoca dicho parásito, posterior a la aplicación de cuatro tratamientos con intervalos de aplicación mensual empleando selamectina a una dosis 6 mg/kg de peso.

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Se utilizaron 32 ratones divididos en 7 grupos (A, B, C, D, E, F y G); los grupos del A al E conformados con 5 animales cada uno y en conjunto con el grupo G conformado con 3 animales, fueron inoculados intragástricamente con una sonda tipo Foley para neonatos con 1000 huevos larvados de *Toxocara canis*. El grupo F constó de 4 animales, al cual se les suministró 250 µl de solución salina fisiológica equivalente al volumen en el cual fueron diluidos los huevos larvados de *Toxocara canis*. El grupo A se sacrificó a los 30 días pos-inoculación (d.p.i.), para confirmar la presencia y migración de larvas. Los grupos B, C, D, E se utilizaron como grupos experimentales y fueron tratados aplicando selamectina durante 4 meses con intervalos de un mes, a una dosis de 6 mg/kg de peso vía epicutánea y sacrificados 7 días después del tratamiento. Los tratamientos iniciaron a los 60 d.p.i. y concluyeron a los 150 d.p.i.; el grupo F se utilizó como grupo no inoculado y se sacrificó un animal por cada grupo experimental; el grupo G se utilizó como control positivo y se sacrificó a los 157 d.p.i. sin recibir tratamiento. De los animales sacrificados se colectaron riñones, pulmón, hígado, cerebro y un gramo de músculo estriado; la mitad de cada uno de los órganos impares y uno de los riñones se sometieron a digestiones artificiales individuales en una solución de jugo gástrico artificial, la mitad restante se sometió a un proceso de fijación con formol al 10% y cada una de las muestras fue procesada para realizar cortes histológicos empleado hematoxilina-eosina para una evaluación histopatológica; el resto de los cortes se usaron para realizarles una inmunotinción mediante el método Complejo Avidina-Biotina para demostrar la presencia de los antígenos de secreción y excreción. En los grupos experimentales se observó una disminución gradual en el número de larvas recuperadas en los órganos estudiados al aumentar el número de tratamientos, sin embargo, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en órganos como músculo estriado, cerebro y en el

total de larvas recuperadas en los grupos D y E en comparación con el grupo G. La eficacia de la selamectina aumenta con el número de tratamientos aplicados; al cuarto tratamiento la eficacia de selamectina en el caso de pulmón, hígado y riñón va del 90 al 100%; en el caso de cerebro es del 87.31%, en músculo con un 99.67% y finalmente la eficacia total de un 94.59%.

La marca de los antígenos de secreción y excreción se relacionó principalmente a la presencia de larvas en músculo esquelético y cerebro; además en el caso de músculo los antígenos también se observaron dentro de granulomas con y sin la presencia de larvas en su interior. En el resto de los órganos analizados no se observó la presencia de antígenos con o sin un tratamiento previo con selamectina; esto sugiere que la presencia de los antígenos de secreción y excreción esta íntimamente relacionada con la presencia de larvas en los tejidos que fueron tratados con un antihelmíntico, en donde la marca por la inmunotinción es evidente. La intensidad de las lesiones microscópicas producidas por *Toxocara canis* que indujo después de 4 tratamientos con selamectina, indica la gran capacidad de las larvas y sus antígenos para provocarlas, manteniéndose por mucho tiempo; en el caso de órganos como hígado, pulmón y riñón, en los dos primeros grupos experimentales se observaron lesiones granulomatosas eosinofílicas, en comparación con los últimos 2 grupos, estas lesiones disminuyen en frecuencia y en intensidad, estableciéndose la evolución normal del padecimiento. En el caso del grupo inoculado no tratado se observaron en los órganos antes mencionados lesiones tanto agudas como crónicas, lo cual está relacionado a la migración de las larvas y permanencia de los antígenos en los tejidos. En el caso de cerebro de todos los grupos inoculados no se observaron lesiones asociadas a los antígenos y en músculo se observaron granulomas con antígenos de secreción y excreción. Cuando la frecuencia de los antígenos presentes en los tejidos disminuyó a consecuencia de la migración de las larvas a órganos de almacenamiento (cerebro y músculo esquelético) o su muerte a causa del tratamiento con selamectina, las lesiones disminuyeron en intensidad y frecuencia siendo más evidentes en órganos como pulmón, riñón e hígado.

INTRODUCCIÓN

Toxocariosis es la denominación aplicada a una de las más importantes enfermedades parasitarias en perros y otros cánidos; es debida a la presencia de los géneros *Toxocara* y *Toxascaris*, siendo el más común *Toxocara canis*. La importancia de este parásito radica en su alta frecuencia en los cachorros menores de tres meses y a los problemas de salud pública, describiéndose dos síndromes: el de *larva migrans visceral* (SLMV) y el de *larva migrans ocular* (SLMO) (Glickman y Shofer, 1987; Schantz y Stehr-Green, 1988).

Toxocara canis

Es un nematodo del orden *Ascaridida*, superfamilia *Ascaridoidea* de la familia *Toxocaridae*. Estos gusanos presentan una coloración blanquecina o blanco lechosa (Fig. 1). En el extremo anterior presentan tres labios con dos alas cervicales laterales que miden 2.5 x 0.2 mm dándole una forma de punta de flecha (Fig. 2). El macho mide de 4-10 cm por 2-2.5 mm de diámetro, en el extremo posterior termina curvado con dos pequeñas espículas; mientras que la hembra mide 5-18 cm de largo por 2.5-3 mm de diámetro, en el extremo posterior termina recta en forma de punta roma. Los huevos eliminados por las hembras son de color café oscuro, subsféricos, miden aproximadamente 90 µm por 75 µm; contienen una masa protoplasmática que ocupa prácticamente todo el interior, la cual esta rodeada por una cubierta gruesa; que esta formada por siete membranas, de las que solo son visibles tres: la membrana interna de naturaleza quitinosa de forma lisa, la membrana media triple de naturaleza lipóide, finalmente la membrana externa albuminosa, que es muy fina y presenta hendiduras llamadas foseas (Fig. 3) (Quiroz, 1988; Nadler, 1992; Kassai, 1998; Díez y col., 1999 ; Alba, 2007).



Figura 1. Adultos de *T canis* (Tomado de Martínez, 2004)

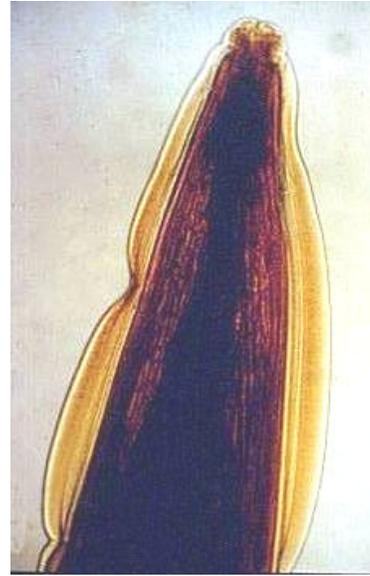


Figura 2. Extremo anterior de *T canis* (plpnmweb,ucdavis,edu)

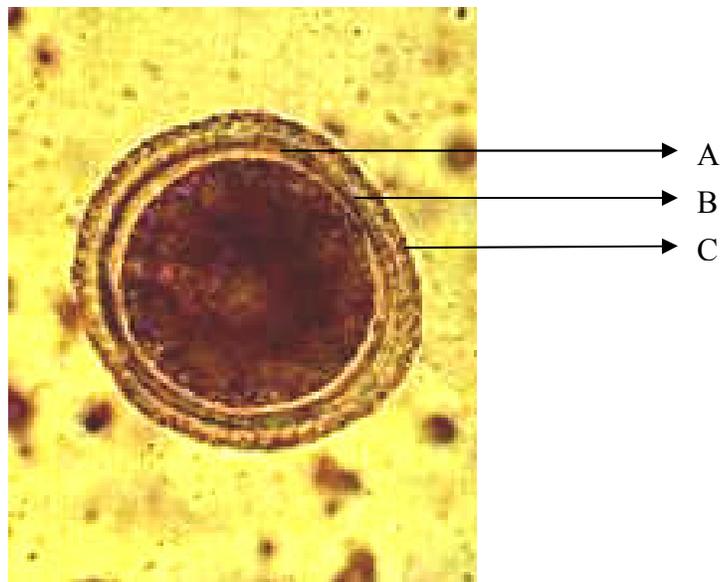


Figura 3. Huevo no embrionado de *T canis*, donde se observan 3 capas: A. Membrana quitinosa; B. Membrana lipóide; C. Membrana albuminosa donde se observan las fosetas (plpnmweb.ucdavis.edu).

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *T canis* es complejo y presenta cuatro posibilidades de infestación:

- 1) Transmisión directa, mediante la ingestión de huevos larvados.
- 2) Transplacentaria o prenatal.
- 3) Transmisión lactogénica, vía calostro o leche.
- 4) Mediante la ingestión de larvas 2 enquistadas en hospedadores paraténicos.

El ciclo comienza con la eliminación de huevos de *T canis* que salen junto con materia fecal de cachorros menores de 12 semanas, donde se dispersan en el ambiente; en condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxígeno; se desarrolla la larva 2 (L2) dentro del huevo que es la fase infestante, esto ocurre en aproximadamente 54 días a una temperatura de 12-18 °C y en 14 días a 25-30 °C. (Quiroz, 1988; Glickman y Shofer, 1987; Díez y col., 1999; Chia-Kwung y col., 2003). Las diferentes posibilidades de infestación dependen del tipo de hospedador, estado fisiológico y de la edad en que se adquiera la infestación, observándose:

1) Transmisión directa, mediante la ingestión de huevos larvados. Cuando los cachorros menores de 12 semanas de edad, ingieren huevos con L2; las larvas eclosionan en el intestino delgado y penetran en la mucosa, pasan a circulación sanguínea e inician una larga migración intraorgánica. Entre las 24-48 horas, llegan al hígado por vía porta, continúan por vena hepática, pasan a la vena cava caudal y de ahí por el lado derecho del corazón a la arteria pulmonar; las larvas rompen los capilares y los alvéolos para dirigirse a vías respiratorias altas; en los alvéolos pulmonares se realiza la muda de L2 a L3, al llegar a la faringe son deglutidas continuando hacia el intestino delgado, donde se realiza la cuarta muda, para después convertirse en adultos a los 28 días post-infestación (p.i.). Los huevos se detectan en las heces de las cuatro a cinco semanas p.i. y paulatinamente cuando los cachorros crecen se eliminan los gusanos adultos del intestino (Quiroz, 1988; Bowman, 1995; Kassai, 1998; Díez y col., 1999).

2) Transplacentaria o prenatal. En las perras gestantes alrededor del día 40-42 de gestación, las larvas somáticas (L2) se reactivan y movilizan hacia la placenta y glándula mamaria, debido a cambios hormonales asociados a la prolactina, cortisona y oxitocina, que se producen al principio de la lactación; produciendo la infestación intrauterina de los

cachorros. Poco antes del parto, se produce una muda y las L3 continúan su desarrollo inmediatamente después del nacimiento, mediante una migración traqueal; posterior a ello maduran sexualmente en 3 ó 4 semanas en el intestino del producto, produciendo infestaciones prenatales y ocasionando que la perra se infeste de nuevo por los hábitos de limpieza de sus cachorros. Por otra parte, en las perras que se reinfestan durante la gestación, las larvas migran al feto pero otras pueden llegar al intestino de la perra y madurar sexualmente; este fenómeno también ocurre con las larvas en hipobiosis como lo describió Lloyd y col. en 1983. En el caso de perros machos mayores de 12 semanas, las L2 en pulmón ya no acceden a la luz alveolar, sino que continúan en la circulación y son distribuidas a diferentes órganos (pulmón, hígado, riñones, músculo esquelético entre otros), permaneciendo en un estado hipobiótico con una respuesta inflamatoria asociada a ella sin proseguir su desarrollo. Este fenómeno también ocurre en otros hospedadores diferentes al perro denominados hospedadores parátenicos (Glickman y Shofer, 1987; Quiroz, 1998; Díez y col., 1999).

3) Transmisión lactogénica, vía calostro o leche. En el caso de perras lactando, la eliminación de larvas por calostro y leche se inicia inmediatamente después del parto, alcanza su nivel máximo en la segunda semana y luego decrece paulatinamente. Este modo de infestación no conlleva migración intraorgánica pues las larvas se desarrollan directamente hasta adultos en el intestino (Lloyd y col., 1983; Díez y col., 1999).

4) Mediante la ingestión de L2 enquistadas en hospedadores parátenicos. La última forma de infestación es debido a la depredación de los hospederos parátenicos por los hospedadores susceptibles a la infestación intestinal; en este caso la ingestión de L2 a partir de los tejidos de los hospedadores parátenicos, ocasionan la liberación de estas a nivel gástrico. En este caso las larvas entran en la mucosa y vuelven a la luz intestinal, donde evolucionan a gusanos adultos de 4 a 5 semanas. El ciclo anterior se resume en la figura 4 (Bowman, 1995; Kassai, 1998).

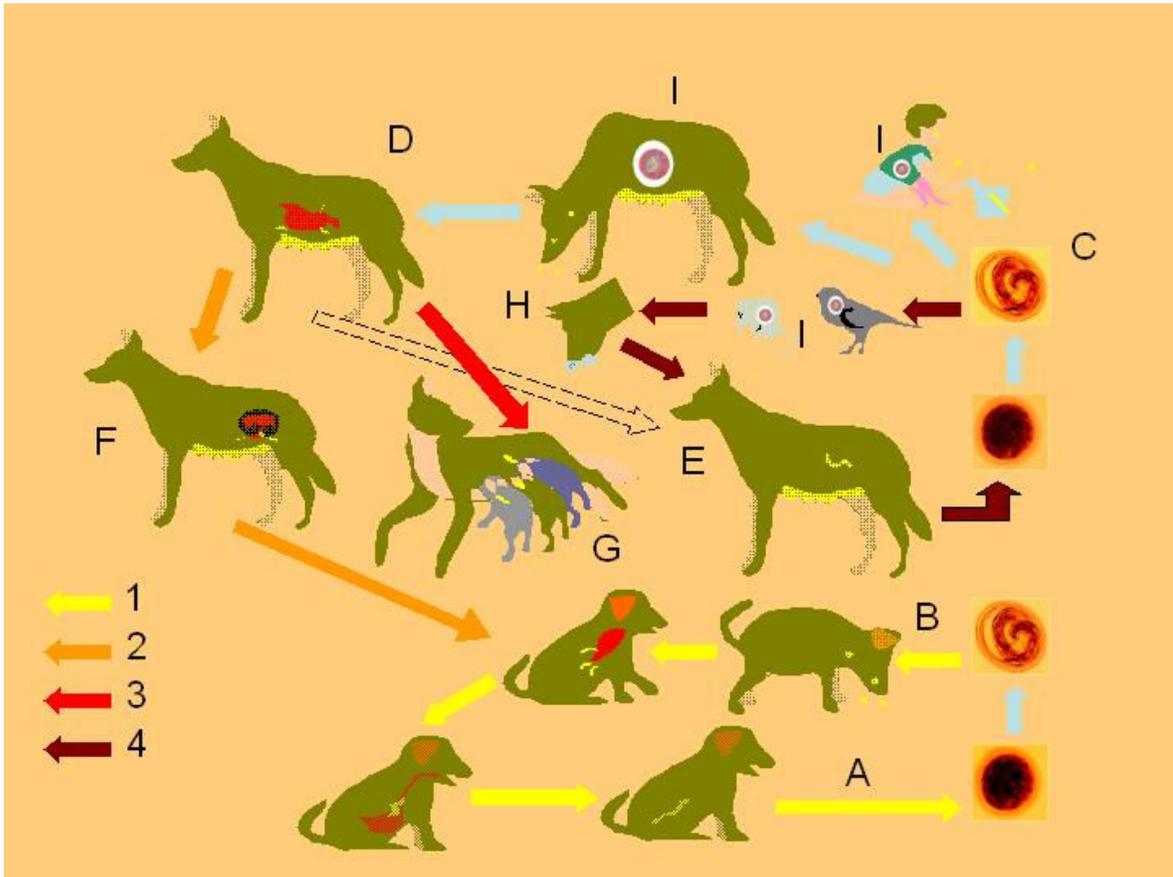


Figura 4. Ciclo biológico de *Toxocara canis* (modificado de Pérez, 2008)

Ciclo Biológico de *Toxocara canis*: Existen 4 posibilidades de infestación; 1) Directa. 2) Transplacentaria o prenatal. 3) Lactogénica, vía calostro o leche y 4) Mediante la ingestión de larvas enquistadas en hospedadores paraténicos; A. Salida de huevos de *T. canis* junto a la materia fecal y desarrollo de la fase infestante larva 2 pasiva; B. Ingestión de huevos larvados de *T. canis*, por cachorros menores de 12 semanas, donde las larvas realizan una migración intraorgánica hasta llegar al intestino delgado y desarrollarse en adultos; C. Ingestión de huevos larvados por perros mayores de 6 semanas y otros hospedadores no definitivos (paraténicos); D. Reactivación de larvas somáticas en perras gestantes; E. Algunas larvas pueden pasar al intestino de la hembra y desarrollarse en nematodos adultos; F. Infestación intrauterina; G. Ingestión de larvas vía leche o calostro por los cachorros lactantes; H. Ingestión del hospedador paraténico; I. Larvas somáticas en diversos órganos, en perros mayores de 12 semanas y hospedadores paraténicos.

EPIDEMIOLOGÍA

La distribución geográfica de la toxocariosis es mundial y con una gran incidencia en perros, debido a la eficiente transmisión transplacentaria, por lo que la mayoría de los cachorros nacen parasitados, además las hembras de *T canis* presentan un alto poder biótico, ya que depositan hasta 200 000 huevos diarios, siendo estos muy resistentes a las condiciones ambientales, tolerando un rango de temperatura de -25 °C a 36 °C, mostrando una gran viabilidad a bajas temperaturas por años, siempre y cuando exista el microclima mencionado anteriormente. En México se han observado tasas de prevalencia que van del 3.6% al 100% (cuadro 1); estos resultados dependen de la edad, procedencia de los animales, condiciones higiénico-sanitarias e incluso de las diferencias en los procedimientos de diagnóstico (Soulsby, 1986; Quiroz, 1988; Glickman y Shofer, 1987; Díez y col., 1999).

Los perros menores de 3 meses suelen tener más gusanos adultos que los mayores a esta edad; esto es particularmente importante debido a que expulsan enormes cantidades de huevos en las heces, los que se acumulan en su entorno; ya sea en casa o lugares públicos como parques o jardines (áreas verdes en general) y constituyen una fuente de infestación para otros perros y hospedadores paraténicos incluyendo al humano. Al respecto, el examen del suelo de parques y campos de juego de distintas ciudades han mostrado la presencia de huevos conteniendo fases infestantes de *T canis*, lo que constituye una fuente de infestación para niños menores de 12 años de edad, al llevarse tierra a la boca de manera accidental e ingerir miles de huevos o bien, niños que presentan pica o geofagia teniendo el mismo desenlace. Los niños mayores a 12 años y adultos, suelen ingerir cantidades imperceptibles de material contaminado, adquiriendo infestaciones ligeras (Schantz y Glickman, 1979; Worley y col., 1984; Neelsen y col., 1996; Velarde y col., 1999; Mizgajska, 2001; Rubel y col., 2003; Illel, 2004).

Cuadro 1. Frecuencia de infestación por adultos de *T canis* en perros de diferentes localidades de México (Tomado de Alba, 1999).

<i>Lugar</i>	Año	Número de Perros examinados	Tipo de examen	Frecuencia %	Autor
México, D.F.	1969	50	CPS	20%	Escalante, 1960
Veracruz	1970	300	CPS	9.6%	Franyutti, 1970
Córdoba, Veracruz	1971	200	CPS	13.5%	Sosa, 1971
Monterrey, N.L.	1972	100	N	5%	Garza, 1972
Guadalajara y San Martín Hidalgo, Jalisco	1973	450	CPS	16.2%	De la Mora, 1973
Ciudad Victoria, Tamaulipas.	1973	50	CPS	30%	Hinojosa, 1973
Cuernavaca, Morelos	1974	719	CPS	15%	Vargas, 1974
México, D.F.	1967	120	CPS	93%	Quiroz, 1982
Aguascalientes, Ags.	1983	294	CPS	47.6%	Valdivia y col., 1983
México, D.F.	1986	200	CPS	21%	Cruz y col., 1986
México, D.F.	1987	176	N	58.5%	Cruz y col., 1987
Veracruz, Ver.	1989	447	CPS	74.4%	Zermeño y col., 1986
México, D.F.	1990	463	CPS	4.9%	Cruz y col., 1987
Pungarabato y Cutzamala, Gro.	1989	106	CPS	37.7%	Barrera y Fragoso, 1989
México, D.F.	1992	240	CPS	3.6%	Panagos y col., 1992
México, D.F.	1995	100	N	30%	Flores, 1995
Culiacán, Sin.	1996	100	CPS	7%	Gaxiola y col., 1996
México, D.F.	1996	47	CPS	100%	Vega y Rivera, 1996
México, D.F.	1998	100	N	15%	Martínez y col., 1998
México, D.F.	1998	470	CPS	19.8%	Eguía-Aguilar, 1998

N: necropsia

CPS: coproparasitológico

PATOGENIA

El daño generado por este parásito depende de su fase evolutiva, los gusanos jóvenes y adultos en su fase intestinal, ocasionan acciones mecánicas obstructivas e irritativas, que pueden interferir con el paso de alimentos, alterando la digestión y absorción; específicamente, de lípidos, proteínas, carbohidratos y vitamina C. Ocasionalmente perforan la pared intestinal, pudiendo ocluir los conductos colédoco y pancreático, agravando más el proceso de mala absorción y digestión (Quiroz, 1988; Ettinger, 1983; Cordero 1999).

En el caso de las fases larvarias tanto en los hospedadores definitivos y paraténicos, debido a la migración compleja que realizan, estas ejercen una acción traumática, hemorrágica y obstructiva, al momento de pasar por pared intestinal, hígado, pulmón, capilares y alvéolos. Por otra parte, existe una acción expoliatriz hematófaga e histófaga, La eliminación de mudas y liberación de antígenos de secreción y excreción conllevan a una respuesta inmune exacerbada, ocasionando efectos anafilácticos y alérgicos (Quiroz, 1988; Kassai, 1998; Díez y col., 1999).

Las lesiones producidas por las fases larvarias debido a su migración ocurren en hospedadores definitivos como paraténicos son de tipo hemorrágico en diferentes órganos, siendo los más afectados: hígado, pulmón, tejido muscular, cerebro, intestino delgado, entre otros; en este último se puede observar una enteritis que puede ser catarral o hemorrágica en relación a la cantidad de huevos conteniendo L2 y para el resto de los órganos las lesiones varían en magnitud dependiendo del mismo factor, en particular en caninos con infestación prenatal o en menores de 3 meses de edad pueden presentar focos inflamatorios a nivel pulmonar (Quiroz, 1988; Alba, 1999).

Las lesiones macroscópicas observadas en los hospederos incluyendo al humano, son principalmente de dos tipos: la primera, es la presentación de algunas hemorragias de tipo petequiral y equimosis que con el tiempo evolucionan hasta formar sufusiones; y la segunda es la formación de microabscesos blancos a blanco amarillentos, los cuales miden de 1 a 3 mm de diámetro, causando que la superficie de los órganos pierda la continuidad; ambos tipos de lesiones están distribuidas en forma difusa sobre toda la superficie de diferentes órganos, afectándose principalmente pulmón, hígado, riñón y ojo; pero

presentándose también en otros tejidos como diafragma, músculo esquelético, corazón y médula espinal (Quiroz, 1988; Alba, 1999; Sommerfelt y col., 2004).

A nivel microscópico los microabscesos producidos por las larvas de este parásito han sido clasificados como lesiones inflamatorias de tipo granulomatoso eosinofílico en los órganos y tejidos antes mencionados (Quiroz, 1988; Alba, 1999).

En riñón, microscópicamente además de la glomerulonefritis intersticial granulomatosa eosinofílica se ha observado: fibrosis periglomerular, marcada condensación de la cápsula de Bowman, en algunos casos hipertrofia e hiperplasia de las células parietales y en ocasiones se observan adherencias entre el epitelio parietal y visceral. En la fase crónica se observa fibrosis periglomerular, con engrosamiento de la cápsula, aunque en algunos glomérulos se observa la contracción del ovillo capilar, en otros casos desaparece, dejando vacío el glomérulo (Quiroz, 1988; Alba, 1999; Sommerfelt y col., 2004).

En hígado, además de la hepatitis intersticial granulomatosa eosinofílica con o sin la presencia de larvas, se ha observado: múltiples áreas focales de necrosis hepatocelular y pueden observarse larvas dentro del parénquima hepático sin mostrar una respuesta inflamatoria asociada a ellas (Alba, 1999; Pinelli y col., 2007).

Las lesiones granulomatosas están formadas por eosinófilos, neutrófilos, macrófagos, linfocitos, fibroblastos y células epiteloides. En fase crónica, se presentan granulomas bien organizados en los que se observa una densa cápsula de colágena y un núcleo que contiene células epiteloides y células gigantes multinucleadas.

En pulmón, microscópicamente se presenta una neumonía granulomatosa eosinofílica y áreas hemorrágicas, con infiltrado de neutrófilos, eosinófilos y macrófagos; ruptura y engrosamiento de paredes alveolares, esto está asociado a mecanismos inmunomediadores. Ocasionalmente los granulomas bien organizados contienen un tipo de células gigantes rodeadas de fibras de colágeno, En algunas áreas de inflamación pueden presentarse larvas en su interior rodeadas de fibrocitos, eosinófilos, linfocitos, y macrófagos, donde las larvas pueden migrar para formar otros granulomas (Parsons y col., 1986; Alba, 1999; Martínez, 2004; Sommerfelt, 2004; Pinelli y col., 2007).

En cerebro no se observan las lesiones macroscópicas descritas anteriormente, debido a las pocas posibilidades de desencadenar reacciones intensas contra organismos, ya que la respuesta inflamatoria causa la destrucción celular y existe una nula regeneración,

Sin embargo, microscópicamente se pueden observar larvas sin encapsulamientos; en lesiones agudas se observa congestión y ligeras hemorragias. En lesiones crónicas se presenta un infiltrado en la sustancia blanca de monocitos y linfocitos, donde además en algunos vasos sanguíneos se observan “manguitos perivasculares” (Beaver y col., 1952; Hamilton, 1982; Parsons y col., 1986; Alba, 1999; Buendía, 2000; Martínez, 2004; Sommerfelt, 2004; Pinelli y col., 2007).

En el ojo inicialmente pueden haber lesiones con larvas que no están asociadas a respuestas inflamatorias; en otros casos, existe una ligera hemorragia de la coroides y el proceso ciliar. En fases crónicas, se observa infiltrado neutrofílico, edema y hemorragias, dañando la retina y el proceso ciliar. Reacciones granulomatosas y extensas hemorragias suelen ser observadas a los 60 días p.i. y posteriormente reemplazadas por material fibroso, La formación de granulomas puede ocasionar el desprendimiento de la retina (Olson, 1976; Alba y col., 2000).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Toxocariosis

La semiología en el hospedador definitivo (cachorro menor de 3 meses) debido a la migración de las larvas son: tos, estornudos y descargas nasales, que tienden a desaparecer en 3 semanas. En infestaciones masivas puede observarse: neumonía, síntomas nerviosos como convulsiones, alteraciones digestivas con emisión de heces blandas, que en ocasiones pueden ser diarreicas con mucosidad y sangre; debido a la presencia de gusanos adultos. Asimismo, el abdomen se encuentra distendido y a la palpación existe dolor; en infestaciones masivas puede existir vómito con eliminación de gusanos, donde también puede observarse deshidratación y pelo hirsuto. Por otro lado, en el cuadro crónico puede verse desnutrición, acompañada de diarrea intermitente y en algunas ocasiones puede presentarse obstrucción y perforación intestinal. Los perros mayores de 3 meses y otros animales no cánidos que fungen como hospedadores paraténicos, pueden presentar manifestaciones nerviosas (Kassai, 1998; Quiroz, 1988; Díez y col., 1999).

LARVA MIGRANS VISCERAL

El síndrome de *larva migrans visceral* (SLMV) es causado por la presencia y la migración de larvas de ciertos nematodos en órganos y tejidos de humanos. El primero en sugerir que las larvas de nematodos afectan a humanos fue Fulleborn en 1921 citado por Beaver en 1952, siendo el mismo quien describió más tarde a *T. canis* como la causa más frecuente y propuso el término de SLMV (Beaver y col., 1952; Beaver, 1969; Glickman y Shofer, 1987; Schantz y Stehr-Green, 1988; Acha y Szyfres, 2003).

El SLMV se presenta frecuentemente en niños entre 1 a 5 años, donde se describe historia de geofagia, pica o exposición a cachorros, ya que es muy común que durante esta edad se les obsequien como mascota cachorros de canino y en consecuencia aumenta el riesgo de la ingestión de una gran cantidad de huevos. Principalmente se encuentran afectados el hígado, pulmón, corazón y cerebro; resultado de las migraciones que realizan las fases larvarias por estos órganos (Nelsen, 1996).

Las manifestaciones clínicas dependen del número de larvas que se encuentren y su localización anatómica. Por lo general las infestaciones son asintomáticas, en donde en el hemograma se observa una eosinofilia persistente de alrededor del 50% del recuento total de leucocitos; la cual es responsable de la producción de interleucina 5 (IL-5) que a su vez es inducida por los antígenos de secreción y excreción liberados por la L2 como lo demostraron en sus experimentos Takamoto y col., en 1997 y 1998. En los casos sintomáticos, generalmente se presenta fiebre, anorexia, dolor abdominal con un hallazgo de laboratorio de eosinofilia, hepatomegalia, esplenomegalia e incremento en los niveles de inmunoglobulinas tipo G y E, así como aumento de las isohemaglutininas anti-A y anti-B. En algunos casos se presentan síntomas pulmonares como bronquitis, tos, jadeo y disnea, Se presentan también síntomas nerviosos, tales como convulsiones, epilepsia y alteraciones en el comportamiento, presentándose una meningoencefalitis; sin embargo, hay datos que indican que la infestación por *T. canis* no se asocia frecuentemente a epilepsia, mientras que como Worley y col., en 1984 no concluyen si existe una asociación entre la seropositividad a *T. canis* en niños con problemas de lectura, marcada distractibilidad y baja inteligencia, Sin embargo, Nelson y col., en 1996, han asociado la seropositividad a un bajo desarrollo de inteligencia en niños (Glickman y col., 1979; Glickman y Shofer, 1987; Schantz y Stehr-

Green, 1988; Magnaval y col., 1991; Schmid, 2000; Alba y col., 2000; Acha y Szyfres, 2003).

LARVA MIGRANS OCULAR

El síndrome de *larva migrans ocular* (SLMO) es la enfermedad ocular debida a la invasión vía hematogena por una o más larvas de *T canis*; que fue descrito por Wilder en 1950 citado por Glickman y col. (1979). Se observa principalmente en niños mayores de 6 años, adolescentes y adultos en ocasiones, donde normalmente la afección es unilateral y generalmente se observa ausencia de SLMV; se considera que este síndrome se presenta en personas que han sido expuestas a un número reducido de larvas, que no estimulan el sistema inmune de manera importante y que de forma errática llegan al ojo (Glickman y col., 1979; Glickman y Shofer, 1987).

La presencia de las larvas puede causar estrabismo, leucorrea, irritación ocular disminución gradual de la visión o su pérdida total, siendo frecuente la endoftalmitis y en general sin los síntomas sistémicos ni la eosinofilia. La lesión granulomatosa generalmente está ubicada cerca del disco óptico y de la mácula con retinocoroiditis, posterior y periférica, panuveítis, papilitis, uveítis, deformación o desprendimiento de la retina, infiltración de células inflamatorias en humor vítreo, lesiones hemorrágicas y neuroretinitis como secuela de migración de larvas en retina. Al respecto, Wilder (1950), Asthon (1960) y Dugoid (1961) reportaron endoftalmia por larvas de *T canis*, en ojos enucleados innecesariamente por presunto retinoblastoma (Glickman y col., 1979; Schantz y col., 1979; Glickman y Shofer, 1987; Schantz y Stehr-Green, 1988; Alba y col., 2000; Acha y Szyfres, 2003).

ANTÍGENOS DE SECRECIÓN-EXCRECIÓN (TES)

Los antígenos de secreción y excreción (TES) son glicoproteínas, que fueron descritos por primera vez en 1975 por De Savigny en cultivos de huevos con larvas infestantes de *T canis* en un medio nutritivo, dando lugar a una serie de antígenos que son reconocidos inmunológicamente por diversos hospedadores. Los TES son productos de la glándula esofágica, que se abre en la luz de este órgano y vierten su contenido por la cavidad oral. Estas glándulas además emiten ramificaciones caudales que se abren en el

poro excretor y que producen una auténtica barrera protectora sobre el cuerpo del nematodo formando la epicutícula, que lo aísla del hospedero. En este sentido, los diferentes análisis realizados en geles de poliacrilamida han identificado por lo menos 20 componentes; existiendo una gran discrepancia entre los productos caracterizados, los cuales tienen un peso molecular que oscila entre los 26 a los 400 kilo-Daltons (kDa).

En los últimos años, los genes que codifican a los TES de *T canis* han sido clonados; para determinar a los constituyentes más importantes, que son principalmente; mucinas, lectinas tipo C y proteína con afinidad a la fosfatidil-etanolamina; además, como resultado de estas investigaciones, estos son los productos mejor caracterizados (Maizels y col., 1984; Meghji y Maizels, 1986; Parsons y col., 1986; Page (a) y col., 1992; Maizels y col., 2000).

TES-26, *Tc*-PEBP. Proteína con afinidad a la fosfatidil-etanolamina

El TES-26 es una proteína con similitud a la que presentan los espermatozoides de mamíferos; se encuentra en la cutícula de la larva por lo que se han propuesto diferentes funciones, como la utilización de los lípidos presentes en el hospedador, por parte de la larva o para unirse a la fosfatidil-etanolamina que se encuentra en la membrana citoplasmática del hospedador (Gems y col., 1995; Maizels y col., 2000; Duodens, 2001).

TES-32, *Tc*-CTL 1. Lectina de tipo C 1

El TES-32 es una lectina que tiene afinidad a unirse a manosa y galactosa, por lo que se le asignó el nombre de *Tc*-CTL-1 (*C-type lectins*) y es una de las proteínas más secretadas junto con el TES-120 por las larvas de *T canis*; esta glicoproteína se conoce por su reactividad con anticuerpos monoclonales y se expresa en la matriz cuticular de la larva del parásito. Con respecto a esto, la secuenciación completa del dominio principal, se mostró una similitud con lectinas tipo C de mamíferos (dependientes de calcio) unidas a manosa, pero con diferencias en su sitio de unión. La mayoría de los miembros de la superfamilia de CTL son receptores en mamíferos y en moléculas tales como las selectinas, CD23 y DEC-205; otras CTL incluyen a la proteína A con afinidad a manosa (MBP-A) encontrada en el suero de mamíferos y en moléculas de defensa innata en mamíferos e

invertebrados (Page y col., 1992^b; Gems y Maizels, 1996; Loukas y col., 1999; Maizels y col., 2000).

TES-70, *Tc*-CTL-4. Lectinas 4 de tipo C

El TES-70 es una glicoproteína secretada en abundancia, y corresponde a una lectina de tipo C, uniéndose específicamente a superficies de células epiteliales de manera calcio independiente. Esto demuestra que los ligandos de las lectinas de *T canis* incluye determinantes en las células de los hospederos; además, reacciona con inmunoglobulinas provocando su precipitación (Page y col., 1992^b; Loukas y col., 2000; Maizels y col., 2000).

El rol biológico de estas lectinas puede ser importante para la supervivencia del parásito. Por ejemplo, lectinas secretadas pueden actuar como competidores solubles para selectinas en la superficie de células del hospedador, bloqueando la adhesión de leucocitos al endotelio vascular y previniendo los primeros pasos de la extravasación y la característica respuesta inflamatoria (Loukas y col., 2000; Maizels y col., 2000).

TES-120, Mucinas *Tc*-MUC-1, MUC-2, MUC-3, MUC-4 y MUC-5

El TES-120 es un componente muy importante de la epicutícula de la larva de *T canis*; esta migra electroforéticamente en 3 bandas con una movilidad a los 120 kDa. Se ha establecido recientemente que hay al menos cinco genes distintos para las mucinas de este parásito, las cuales presentan una similitud importante, pero con ciertas diferencias. Las MUC-2, MUC-3, MUC-4 y MUC-5 son ricas en treonina, mientras que la MUC-1 es rica en lisina (Gems y Maizels, 1996; Maizels y col., 2000; Doudens y col., 2001).

Por espectrofotometría de masas de las bandas purificadas y con generación de anticuerpos hacia secuencias específicas de las mucinas, se ha establecido que MUC-1, MUC-2, MUC-3 están presentes en el complejo del TES-120; mientras que las mucinas MUC-4 y MUC-5 han sido clonados sus genes y no existen datos que sugieran que estas moléculas sean secretadas por la larva. En el caso de MUC-5 la liberación por la larva no parece probable, debido a su alto contenido de lisina y se sabe que el TES-120 no incorpora lisina (Gems y Maizels, 1996; Maizels y col., 2000; Doudens y col., 2001).

TES-400

El TES-400 es un componente difuso de alto peso molecular, que no se encuentra en la superficie de la larva a diferencia de las pequeñas proteínas, el TES-400 es predominantemente un carbohidrato, por datos de tinción en geles con ácido peryódico de Schiff. A este respecto, Loukas y col. en 1999 señalan que el TES-400 es resistente a las proteasas y reacciona con anticuerpos policlonales hacia CTL-1, pero no con anticuerpos monoclonales específicos de CTL-1; esto sugiere que el TES-400 puede ser análogo a los proteoglicanos de mamíferos tales como agrecano y brevicano, los cuales contienen dominios de lectinas dentro de una estructura altamente glicosilada. En el cuadro 2 se muestran algunos de los genes que se han identificado como los más activos entre el hospedador y el parásito (Maizels y col., 2000; Meghji y Maizels, 1986; Maizels y col., 1984).

Cuadro 2. Algunos de los genes expresados por larvas de *T canis* (modificado de Maizels y col., 2000)

Gene	Identificación	Tamaño de la proteína (aminoácidos)	Identificación en Western Blot
<i>Tc-aep-1</i>	Asparginil endopeptidasa	>454	----*
<i>Tc-aqp-1</i>	Aquaporina	310	----
<i>Tc-cpl-1</i>	Catepsina L	216	----
<i>Tc-cpz-1</i>	Catepsina Z	307	----
<i>Tc-ctl-1</i>	Lectina 1 tipo C	219	32 kDa
<i>Tc-ctl-2</i>	Lectina 2 tipo C	221	----
<i>Tc-ctl-3</i>	Lectina 3 tipo C	>182	----
<i>Tc-ctl-4</i>	Lectina 4 tipo C	228	70 kDa
<i>Tc-muc-1</i>	Mucina-1	117	120 kDa
<i>Tc-muc-2</i>	Mucina-2	174	120 kDa
<i>Tc-muc-3</i>	Mucina-3	267	120 kDa
<i>Tc-muc-4</i>	Mucina-4	194	----
<i>Tc-muc-5</i>	Mucina-5	316	----
<i>Tc-ofm-1</i>	Olfadectina	531	----
<i>Tc-peb-1</i>	PEBP	263	26 kDa
<i>Tc-pro-1</i>	Prohibitina	274	----
<i>Tc-sod-1-5</i>	Superoxido dismutasa 1-5	180 – 190	----

* ---- = No existen referencias

Los TES son rápidamente reconocidos por el sistema inmunológico y provocan una fuerte respuesta de anticuerpos. No hay evidencia de que esta respuesta tenga una función protectora, por lo que Maizels y col, en 1984 han sugerido que la ventaja de producir grandes cantidades de estos antígenos de secreción y excreción, es el distraer al sistema inmunológico al sintetizar anticuerpos no protectores, lo que significa un desgaste para el hospedero al tratar de eliminar al organismo que presenta una renovación constante de los TES, teniendo un detrimento de los tejidos asociados a la persistencia de procesos inflamatorios (Glickman y Shofer, 1987; López y col., 2003).

TRATAMIENTO

El tratamiento contra *T. canis* se han enfocado en dos puntos principalmente, el primero contra fases adultas, donde los estudios se han llevado en condiciones controladas y han mostrado eficacia; los principales compuestos utilizados son: sales de piperacina, compuestos bencimidazólicos, imidazotiazólicos, lactonas macrocíclicas y otros, En el segundo caso se han valorado diversos fármacos contra las fases larvianas, en diferentes estudios y con resultados dispares; en estos estudios Tongson y Dayrit en 1973 examinaron la eficacia del tetramisol a dosis de 10 mg/kg de peso, sobre larvas somáticas de *T. canis* en ratas blancas encontrando resultados significativos; con un período de administración de 4 a 6 semanas. Por otra parte, Holt y col., en 1981 evaluaron varios bencimidazoles (mebendazol, oxfendazol, albendazol y febendazol), además de la piperacina y dietilcarbamacina; en ratones con larvas de *T. canis* cuyo número de larvas en cerebro no muestra diferencia significativa entre ratones tratados y no tratados. Así también, González en 1983 analizó la eficacia del nitroscanate a una dosis de 25 mg/kg de peso, sin encontrar resultados significativos. Del mismo modo, Abo-Shehada y Hebert en 1984^a, examinaron la eficacia de ivermectina a dosis de 200 µm/kg de peso, levamisol a dosis de 150 mg/kg de peso vía subcutánea y 100 mg/kg vía oral, albendazol y febendazol a dosis de 100 mg/kg de peso vía oral cada uno, donde la eliminación de larvas fue estadísticamente significativa para la ivermectina con una reducción de larvas del 80%. De igual manera Álvarez en 1987 evaluó la ivermectina obteniendo los mismos resultados con la misma dosis. Por el contrario, Carrillo en 1985 evaluó la eficacia de la dietilcarbamacina a dosis de 50 mg/kg de peso; encontrando solo resultados estadísticamente significativos a los 5 y 10

tratamientos. Por otro lado, investigadores como Samanta y Ansari en 1990 evaluaron la eficacia de la ivermectina a dosis de 0.2 mg/kg de peso, albendazol y febendazol a dosis de 100 mg/kg de peso y por último al tiabendazol a dosis de 150 mg/kg de peso, encontrando una disminución en el promedio de larvas de 54.4%, 51.4%, 36.36% y 22.5% respectivamente. Fok y Kassai evaluaron en ratones la eficacia de la ivermectina a dosis de 0,6 mg/kg de peso vía oral y subcutánea, albendazol a dosis de 1.6 a 3 g/kg de peso en el alimento, encontrando una mayor eficacia para el albendazol en comparación con la ivermectina. En referencia a esto, durante el 2003, López y col., evaluaron cinco repeticiones de ivermectina mensuales a dosis de 0.2 μ m/kg de peso y encontraron una disminución gradual en el número de larvas somáticas de *T canis* en cerebro del 88.5%, pero un aumento de larvas en otros órganos, donde posiblemente la remoción de larvas en músculo activen las que se encuentran en cerebro con la finalidad de seguir con su ciclo de vida, situación similar a la que se presenta en perras para favorecer la transmisión durante la gestación y lactación (Lopez y col., 2003).

Por otro lado, el uso de medicamentos en el humano se ha dado bajo la perspectiva de un tratamiento somático, donde solo se observan las valoraciones clínicas pero no existe un control y no se reporta la remoción completa de las larvas. Así por ejemplo, Bass y col, en 1987 realizaron un estudio en donde el 16% de 153 niños hispanos que presentaron toxocariasis asintomática, con altos títulos de anticuerpos específicos a *T canis* y una marcada eosinofilia; donde se trataron con tiabendazol a una dosis de 25 mg/kg por 4 días y 50 mg/kg por 3 días; encontrando que no existe una disminución en los títulos de anticuerpos y en la eosinofilia. Por otro lado, Magnaval en 1995 comparó la eficacia de la dietilcarbamacina y el mebendazol, resultando más eficaz el mebendazol por disminuir los signos clínicos. Otro investigador que ha descrito sobre la enfermedad es Arango quien en 1998 describió un caso en un niño de 4 años, donde se utilizó tiabendazol por 15 días a una dosis de 25 mg/kg de peso, reportando una disminución en los signos clínicos a los tres meses pero con una eosinofilia persistente. Por último, Barisani-Asenbauer y col., en 2001 trataron a 5 pacientes con SLMO con albendazol a una dosis de 800 mg en adultos y 400 mg en una sola dosis junto con esteroides, observando una mejoría en la agudeza visual y sin reporte de uveítis (Bass y col., 1987; Magnaval, 1995; Arango, 1998; Barisani-Asenbauer y col., 2001).

SELAMECTINA

Nombre genérico

Selamectina.

Origen y química

La selamectina pertenece al grupo de las lactonas macrocíclicas, que son el producto de la fermentación de *Streptomyces avermitilis*. La selamectina es un monosacárido modificado químicamente de la doramectina, que a su vez es un derivado de la fermentación de la avermectina (fig. 5) (Bishop y col., 2000; Walker y Fenner, 2000).

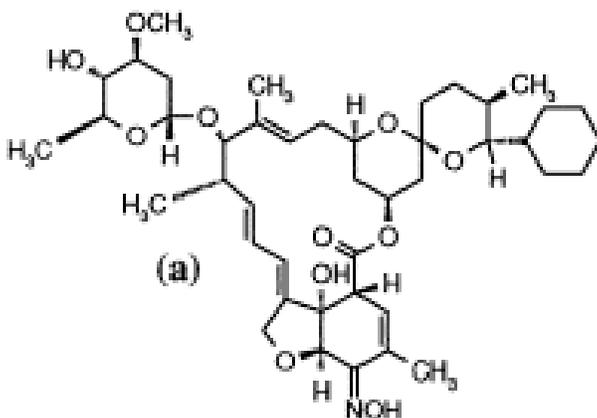


Figura 5. Estructura de la selamectina, monosacárido 25-ciclohexil-25-de-1-metilpropil-5-deoxy-22,23-dihidro-5-hidroxiiminoavermectina B1 (tomado de Bishop y col., 2000).

Acción farmacológica

Antiparasitario endectocida, sin efecto alguno en trematodos, cestodos, ni protozoarios (Reimemeyer y Courtney, 2001; Plumb, 2005).

Farmacodinámica

La selamectina actúa al interferir en la conductividad del canal del cloro, provocando la interrupción de la neurotransmisión normal, de la misma forma que otras lactonas macrocíclicas. Ello inhibe la efectividad eléctrica de las células nerviosas en los nemátodos y en las células musculares en los artrópodos; estimula la liberación del ácido gamma-amino-butírico (GABA) del parásito, que es el principal neurotransmisor

inhibitorio en la corteza cerebral, mantiene el tono inhibitorio, balancea la excitación neuronal y actúa en dos tipos de receptores:

- GABA A, que controla la entrada de cloro a la célula,
- GABA B, que aumenta la conductancia del potasio y disminuye la entrada de calcio (Booth, 1998; Novotny, 2000; Reimemeyer y Courtney, 2001; Plumb, 2005).

Farmacocinética

Se puede suministrar por vía oral y tópica, debido a su alta liposolubilidad, este principio se absorbe por la piel tras la administración tópica, alcanzando la concentración plasmática máxima entre 1 y 3 días posteriores a su administración en gatos y perros, respectivamente. Se distribuye sistémicamente en todo el organismo excepto en el sistema nervioso central donde no atraviesa la barrera hematoencefálica y se elimina lentamente en treinta días después de una sola dosis tópica de 6-12 mg/Kg; la persistencia prolongada y la lenta eliminación, se reflejan en los valores terminales de eliminación de vida media de 8 y 11 días en gatos y perros respectivamente. Se biotransforma por el hígado por hidroxilación y dimetilación al igual que las avermectinas y se elimina por bilis en heces, leche y en menor proporción por vía renal (Soulsby, 1986; Melhorn, 1993; Booth, 1998; Bishop y col., 2000; Novotny, 2000; Walker y Fenner, 2000).

Posología

La dosis tópica recomendada es de 6-12 mg/kg en una aplicación mensual, para el control de parásitos internos y externos como *Ctenocephalides sp.* y microfilarias de *Dirofilaria immitis*, en perros y gatos. Además se utiliza en el tratamiento contra *Sarcoptes scabiei*, *Otodectes cynotis*, *Rhipicephalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis*, además en nematodos como *Toxocara sp.*, *Ancylostoma sp.* (Bishop y col., 2000; Jeringan y col., 2000; McTier y col., 2000; Novotny, 2000; Six y col., 2000).

Usos terapéuticos

La selamectina tópica esta indicada para la infestaciones con pulgas (*Ctenocephalides sp.*), prevención del gusano del corazón (*Dirofilaria immitis*), otoacariasis (*Otodectes cynotis*), sarnas sarcóptica (*Sarcoptes scabiei*) e infestaciones por garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus* y *Dermacentor variabilis*) en perros y gatos. Además tiene

efecto sobre algunos nematodos como *Toxocara sp.*, *Ancylostoma sp.* La selamectina no tiene efecto sobre los gusanos del corazón adultos o erradicación de microfilarias circulantes (Jeringan y col., 2000; McTier y col., 2000; Novotny, 2000; Six y col., 2000).

Reacciones adversas

Aproximadamente el 1% de los gatos experimentó una alopecia localizada transitoria en el sitio de aplicación, con o sin inflamación seguido del tratamiento. Otros efectos comunicados (incidencia menor al 0.5%) incluyeron diarrea, vómito, temores musculares, anorexia, prurito, urticaria, eritema, letargo, salivación y taquipnea. Muy rara vez, se comunicaron convulsiones y ataxia en perros (Page, 2002; Plumb, 2005).

Contraindicaciones

No se debe emplear en animales enfermos, desnutridos o débiles. No se recomienda utilizarlo en animales menores de 6 semanas de vida. Los perros de raza Collie pueden ser sensibles a las lactonas macrocíclicas, por lo que su uso debe ser con cautela (Novotny, 2000; Plumb, 2002).

Interacciones farmacológicas

Ninguna conocida, sin embargo; puede utilizarse en combinación con anticestódicos para aumentar el espectro de acción. (Plumb, 2002).

Forma farmacéutica

La selamectina se comercializa en una presentación tópica al 6 y 12%, en un producto denominado *Revolution*® de laboratorios Pfizer.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

El suministro de cuatro tratamientos con intervalos de aplicación mensual empleando selamectina, debe producir la reducción en la intensidad en las lesiones debido a la eliminación gradual de larvas y a la disminución en la cantidad de TES, así de esta forma acelerar la involución de las lesiones.

OBJETIVOS

- Contribuir al estudio sobre *Toxocara canis*, utilizando al ratón (*Mus musculus*) cepa CD1 y la selamectina, para evaluar su eficiencia y la involución de las lesiones provocadas por este mismo parásito, que es de interés para la salud pública.
- Analizar la eficacia de la selamectina en contra de larvas somáticas de *Toxocara canis* en ratones.
- Observar por medio de inmunohistoquímica, el papel juegan de los TES en la evolución de las lesiones, después del tratamiento con selamectina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Realización

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Parasitología de la Sección de Salud Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, campo 4; en el municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Esta zona se encuentra ubicada geográficamente entre las coordenadas 19° 41' 35" de latitud norte y 99° 11' 42" de longitud oeste y una altitud de 2,420 metros sobre el nivel del mar. Geográficamente se encuentra a 205 kilómetros al noroeste de la cabecera de Cuautitlán México; colinda al sur con el municipio de Teoloyucan y al oeste con el municipio de Tepozotlán (INEGI, 2000).

El clima es templado y subhúmedo con lluvias en verano, sus temperaturas son uniformes en otoño e invierno, con vientos dominantes suaves al sureste, las temperaturas mínimas esporádicas, de diciembre a enero, van de 0 a 3° C bajo cero. La precipitación pluvial anual estimada es de 1,699,5 milímetros, la evaporación diaria es estimada en 4,43 milímetros (INEGI, 2000).

Material biológico

- 32 ratones (*Mus musculus*) cepa CD1 machos de aproximadamente 40 días de edad, los cuales fueron mantenidos bajo condiciones de bioterio, suministrándoles agua y alimento comercial *ad libitum*
- Ovoalbúmina
- Suero policlonal anti-TES de conejo

Material no biológico

Farmacológico

- Selamectina Revolution, Pfizer. Dosis 6 mg/kg de peso y hexano como diluyente, en un volumen de 1 ml

Equipo

- Centrifuga
- Microscopio compuesto

- Balanza analítica
- Estufa bacteriológica
- Micrótopo

Reactivos

- Agua destilada
- Formol al 1%
- Hexano
- Solución salina fisiológica
- Ácido clorhídrico
- Pepsina
- Alcoholes en diferentes concentraciones (70%, 80%, 96% y 100%)
- Xilol
- Parafina
- PBS (solución amortiguadora de fosfatos)
- Kit de inmunohistoquímica LSAB+KIT, peroxidasa marco Dako Corporation, número de catalogo K0679
- Resina

Colorantes

- Hematoxilina
- Eosina
- Cromógeno DAB (3'3' diaminobenzidina)

Otros

- Cajas de Petri
- Tamiz de prueba física de 0,297 mm de abertura
- Sonda tipo Foley para neonatos
- Tubos de ensaye
- Gasas

- Vasos coplin
- Cámaras húmedas
- Portaobjetos
- Cubreobjetos

Metodología

Obtención y embrionación de los huevos de *T canis*

La obtención y cultivo de huevos se realizó usando una modificación del método descrito por Oshima en 1961. Se recolectaron parásitos adultos de *T canis* a partir del intestino delgado de cachorros de entre uno y tres meses de edad con infestación natural obtenidos del centro de control canino de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Las hembras de *T. canis* fueron separadas de los machos y colocadas en cajas de Petri con agua destilada, se extrajo el útero con una incisión en la parte media del cuerpo del nematodo y después se incidió este para obtener los huevos; después con un tamiz de prueba física de 0,297 mm de abertura se eliminaron los restos y membranas del parásito. Los huevos se sometieron a varios lavados con formol al 1% mediante centrifugación a una velocidad de 600 x g durante 5 minutos para eliminar contaminantes. El botón de huevos sedimentados se resuspendió en solución salina fisiológica formolada al 2% y se incubaron en estufa bacteriológica, a 20-22 °C durante 28 días, para lograr el desarrollo de la L2. Al término del proceso se verificó la viabilidad de los cultivos mediante el conteo de huevos larvados contenidos en 20 µl del cultivo al microscopio, repitiéndose 10 veces este proceso; el porcentaje de viabilidad se determinó observando el movimiento larvario dentro de los huevos, con un 54% y finalmente se realizaron los cálculos para obtener una concentración de 1000 hITc en 250 µ.

Protocolo experimental

Se utilizaron 32 ratones que fueron divididos en 7 grupos A, B, C, D, E, F y G; los grupos del A al E fueron conformados con 5 animales cada uno. Todos los animales fueron inoculados intragástricamente con una sonda tipo Foley para neonatos con 1000 hITc. El grupo F constó de 4 animales, al cuál se les suministró 250 µl de solución salina fisiológica

equivalente al volumen en el cual fueron diluidos los hITc y el grupo G estuvo conformado por 3 animales.

El grupo A se sacrificó por desnucamiento a los 30 días pos-inoculación (d.p.i.), para confirmar la presencia y migración de larvas. Los grupos B, C, D, E se utilizaron como grupos experimentales y fueron tratados aplicando selamectina durante 4 meses con intervalos de un mes, a una dosis de 6 mg/kg de peso vía epicutánea (Bishop y col., 2000; Jeringan y col., 2000; McTier y col., 2000; Novotny, 2000; Six y col., 2000; Enríquez y Martínez, 2004) y sacrificados 7 días después del tratamiento. Los tratamientos iniciaron a los 60 d.p.i. y concluyeron a los 150 d.p.i.; el grupo F se utilizó como control negativo y se sacrificó un animal por cada grupo experimental; el grupo G se utilizó como control positivo y se sacrificó a los 157 d.p.i. sin recibir tratamiento. Lo anterior se resume en el cuadro 3.

Cuadro 3. Protocolo al que fueron sometidos los grupos para el desarrollo del experimento.

Grupo	Número de animales	Número de tratamientos por grupo	Días de tratamiento pos-inoculación	Días de sacrificio pos-inoculación
A	5	0	-----*	30
B	5	1	60	67
C	5	2	60 y 90	97
D	5	3	60, 90 y 120	127
E	5	4	60, 90, 120 y 150	157
F	4	4	60, 90, 120 y 150	67, 97, 127 y 157
G	3	0	-----*	157

* No se administró tratamiento

Digestión artificial

Después del sacrificio por desnucamiento se realizó la necropsia para extraer los riñones, hígado, pulmón, cerebro y un gramo de músculo esquelético del muslo izquierdo; la mitad de cada uno de los órganos impares y uno de los riñones se sometieron a una digestión artificial, para lo cual se maceraron y se colocaron en una gasa, misma que se sumergió en un tubo de ensayo con jugo gástrico artificial (ácido clorhídrico al 0.3% y pepsina al 0.6%), reposando por tres días en estufa de cultivo a 37 °C, para favorecer la migración de las larvas. Una vez transcurrido el tiempo, se extrajo del tubo la gasa con el tejido y la solución restante se centrifugó con el fin de concentrar el sedimento con larvas

de *T. canis* presentes en la suspensión, la cual se depositó en un portaobjetos para su observación en el microscopio óptico y se llevó a cabo el conteo respectivo en cada uno de los órganos procesados. En el caso del músculo esquelético, ya que sólo se procesó un gramo de muestra, el valor obtenido de larvas en este gramo de músculo se multiplicó por el peso del ratón sin vísceras ni piel.

La mitad restante de los órganos impares y el órgano par restante, fueron procesados para cortes histológicos, esto consistió en la fijación de las muestras con formol al 10%, para después deshidratarlos con alcoholes de menor a mayor concentración (70%, 80%, 96% y 100%), aclaramiento mediante el uso de xilol e infiltración con parafina y finalmente inclusión en la misma para formar bloques; posteriormente se realizaron 6 cortes histológicos con un espesor de 5 µm.

Uno de los cortes de cada muestra fue empleado para hacer la tinción de rutina hematoxilina-eosina (HE) y realizar una evaluación histopatológica; el resto de los cortes se usaron para realizarles una inmunotinción mediante el método ABC (Avidin-Biotin Complex) para demostrar la presencia de los TES.

Prueba inmunohistoquímica

El procedimiento se describe a continuación:

1. Desparafinado: Las muestras se incubaron 15 minutos en estufa bacteriológica a 60° para fundir la parafina; posteriormente se sometieron a 2 baños de xilol de 5 minutos cada uno, en vasos coplin.
2. Hidratación: Después del desparafinado se hidrataron las muestras utilizando alcoholes de mayor a menor concentración (100%, 96%, 80% y 70%) y llevándolos hasta PBS.
3. Proceso inmunohistoquímico: Todos los pasos de este proceso se desarrollaron en cámaras húmedas, utilizando el kit de inmunohistoquímica LSAB+Kit, Peroxidasa, tal como se describe en el siguiente listado:
 - a) Bloqueo de la actividad de la peroxidasa endógena,
 - b) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
 - c) Bloqueo de la actividad de la biotina endógena, utilizando ovoalbúmina en una solución de buffer tris tween (TBT-T) por 10 minutos,

- d) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
- e) Bloqueo de la unión inespecífica del anticuerpo (Ac) secundario, con suero normal de cerdo a una dilución de 1:20,
- f) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
- g) Incubación del Ac primario (suero policlonal anti-TES producido en conejo a una dilución de 1:1000 por dos horas),
- h) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
- i) Incubación con el Ac secundario cabra anti conejo marcado con biotina, por 15 minutos,
- j) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
- k) Incubación con el complejo enzimático biotina marcada con estreptovidina peroxidasa, por 15 minutos,
- l) Tres lavados con PBS por 2 minutos cada uno,
- m) Revelado de las muestras empleando el cromógeno DAB (3'3' diaminobenzidina) la reacción se observó en un microscopio óptico por 30-90 segundos,
- n) Contraste mediante el uso de hematoxilina de Harris por un minuto, aclarando con una solución de carbonato de litio al 1% con 4 ó 5 inmersiones.

4. Deshidratación: Después de terminar el proceso de inmunohistoquímica se deshidrataron las muestras utilizando alcoholes de menor a mayor concentración (70%, 80%, 96% y 100%) y posteriormente se aclararon utilizando xilol.

5. Montaje: Para la conservación de las muestras se montaron con el uso de resina sintética y cubreobjetos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con el objetivo de comparar los valores obtenidos en cuanto al número de larvas recuperadas entre los grupos, el número de larvas recuperadas en cada órgano en cada grupo y hacer una comparación del número de larvas recuperadas en los diferentes órganos, se utilizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey (comparación de medias) utilizando un nivel de confianza $p < 0.05$, para lo cual se utilizó el programa Excel de Microsoft y el Paquete de diseños experimentales Versión 2.4 de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Así mismo, para evaluar la eficacia de la selamectina se utilizó la ecuación de Wescott, (Soulsby, 1986):

$$\text{Porcentaje de eficacia \%} = [(a-b) / a] \times 100$$

Donde:

a = número de parásitos en el grupo no tratado

b = número de parásitos en el grupo tratado

RESULTADOS

Digestión artificial

El número de larvas recuperadas del proceso de digestión artificial de los grupos se muestran en el cuadro 4 y gráfica 1, En orden descendente, los órganos con un mayor número de larvas recuperadas de los grupos experimentales (B, C, D, E) fueron: cerebro, músculo, hígado, pulmón y riñón; mientras que en los grupos control positivo (A y G), se observó el mismo patrón, con la diferencia que en músculo se encontró una mayor cantidad de larvas que en cerebro; en el caso del grupo negativo (F), no se recuperó ninguna larva,

Cuadro 4. Número de larvas recuperadas por órgano de ratones, en cada uno de los grupos experimentales,

Grupos	Número de Tratamientos	Sacrificio d.p.i.*	Cerebro	Músculo	Pulmón	Hígado	Riñón	Total
A	0	30	710	1218.8	19	31	2	1980.8
B	1	67	533	3516	14	13	6	917.6
C	2	97	422	226.2	3	9	2	662.2
D	3	127	189	28.8	0	1	3	221.8
E	4	157	57	33.2	0	0	0	91.2
F	1, 2, 3 y 4	67, 97, 127 y 157	0	0	0	0	0	0
G	0	157	449	611.4	10	18	2	1090.4

* Días post inoculación.

Para evaluar la presencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el número de larvas recuperadas de los grupos experimentales del B al E en comparación con el grupo inoculado no tratado (G) después de los tratamientos con selamectina, se realizó un ANOVA y una prueba Tukey para comparar medias, para valorar en cual de los grupos experimentales se presentó una mayor diferencia estadística ($p < 0.005$) con respecto al grupo G; el comportamiento de los grupos es muy similar en todos los casos; en músculo y cerebro los grupos donde existe diferencias significativas ($p < 0.005$) con el grupo G, son los grupos D y E; mientras que en el número total de larvas, los grupos con diferencias significativas ($p < 0.05$) son el grupo B, D y E.

Mediante el análisis se observó que los grupos experimentales muestran una disminución gradual en el número promedio de larvas recuperadas, en comparación con el grupo G; sin embargo, las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) se observaron únicamente en cerebro y músculo además del número total de larvas; lo anterior se resume en el cuadro 5 y las gráficas 2 a 7.

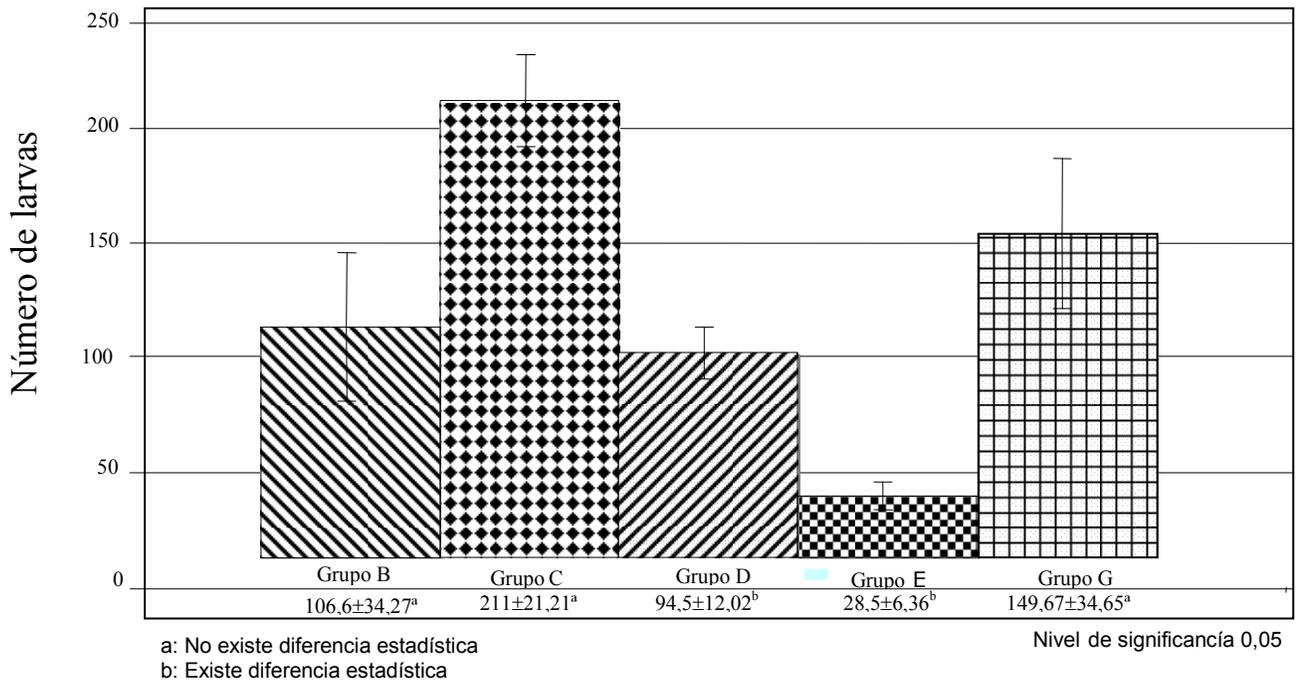
Cuadro 5. Promedio y desviación estándar del número de larvas encontradas en los grupos B al E, en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.

Grupos	Tratamientos	Cerebro	Músculo	Pulmón	Hígado	Riñón	Total
B	1	106.6±34.27 ^a	70.32±28.76 ^a	2.8±1.68 ^a	2.6±1.14 ^a	1.2±0.45 ^a	183.52±53.46 ^b
C	2	211±21.21 ^a	113.1±1.27 ^a	1.5±0.71 ^a	4.5±0.71 ^a	1±0.00 ^a	331.1±19.94 ^a
D	3	94.5±12.02 ^b	14.4±2.12 ^b	0±0.00 ^a	0.5±0.71 ^a	1.5±0.71 ^a	110.9±9.90 ^b
E	4	28.5±6.36 ^b	16.6±7.21 ^b	0.0±0.00 ^a	0±0.00 ^a	0±0.00 ^a	45.6±13.58 ^b
G	0	149.67±34.65 ^a	203.8±58.93 ^a	3.33±1.53 ^a	6±2.65 ^a	0.67±0.58 ^a	363.47±62.78 ^a

a: No existe diferencia estadística

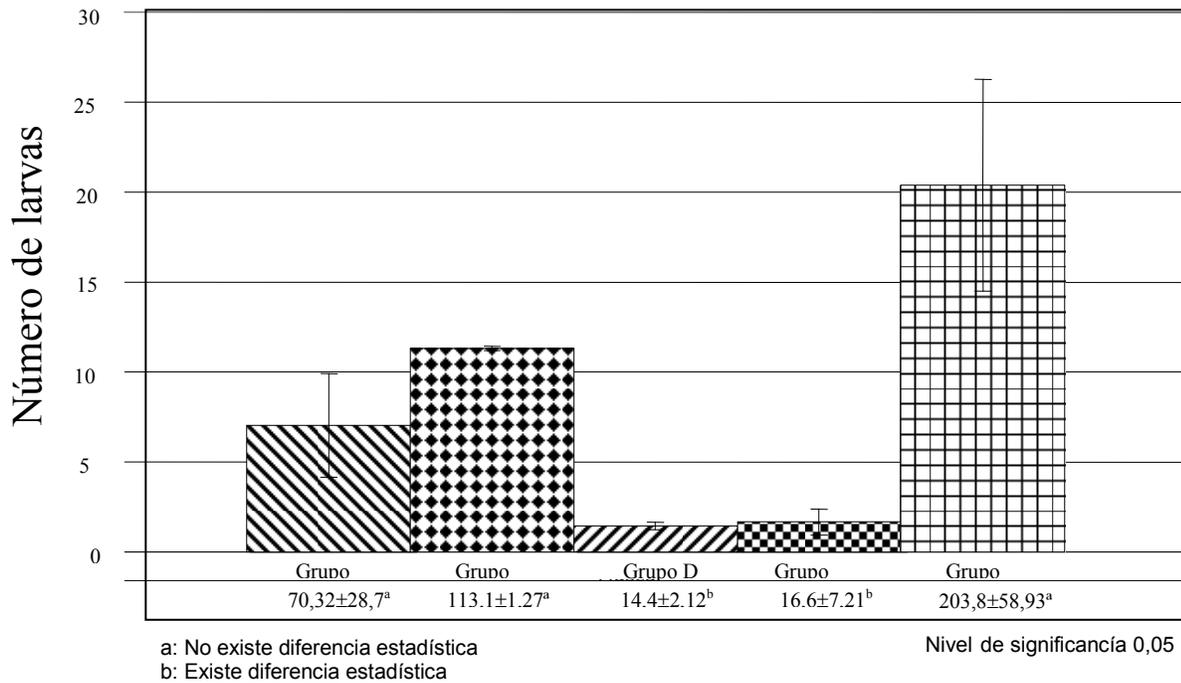
b: Existe diferencia estadística

Nivel de significancia 0.05



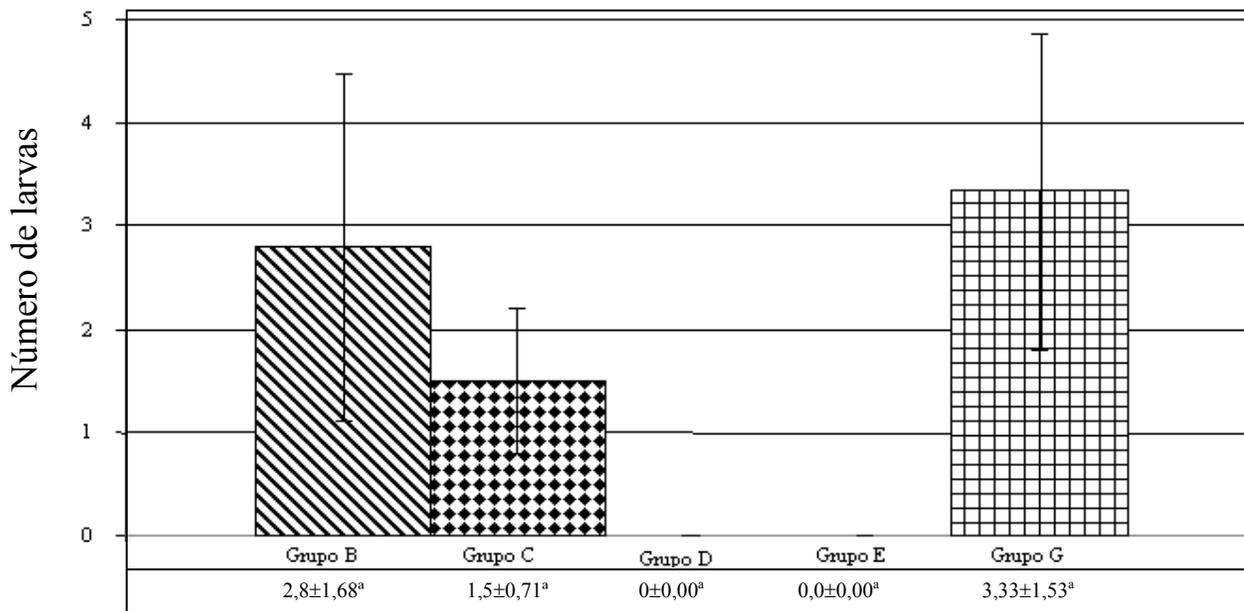
Cerebro

Figura 6. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en cerebro de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.



Músculo

Figura 7. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en músculo de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.

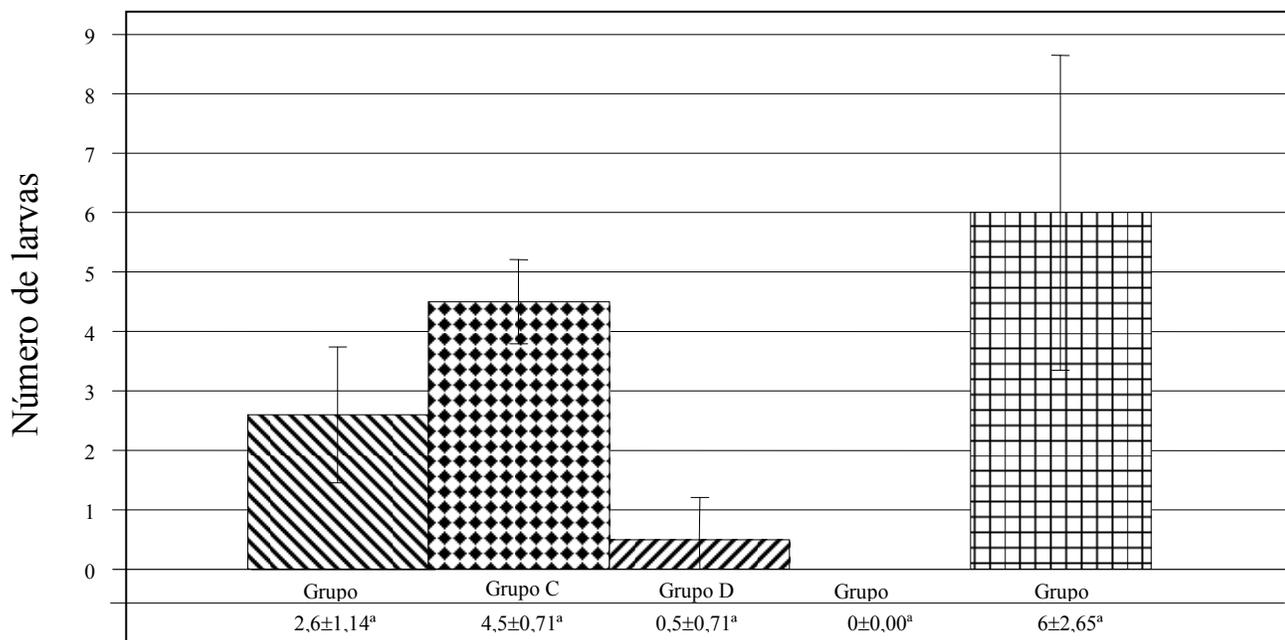


a: No existe diferencia estadística
b: Existe diferencia estadística

Nivel de significancia 0,05

Pulmón

Figura 8. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en pulmón de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.

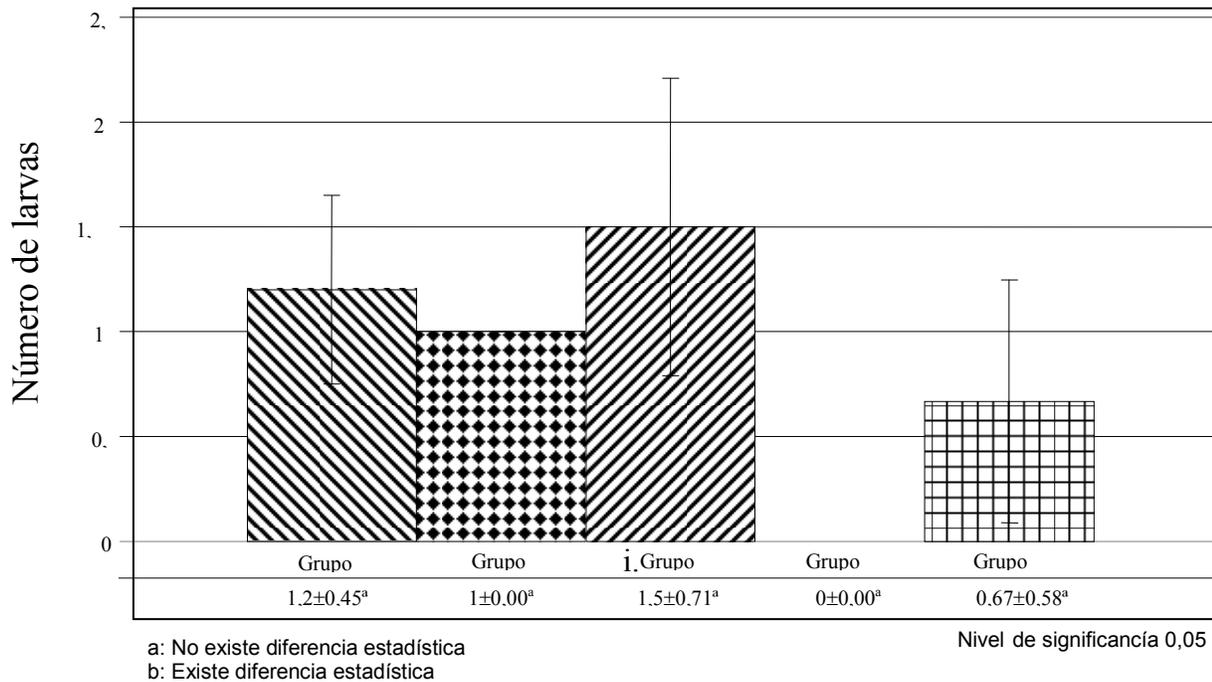


a: No existe diferencia estadística
b: Existe diferencia estadística

Nivel de significancia 0,05

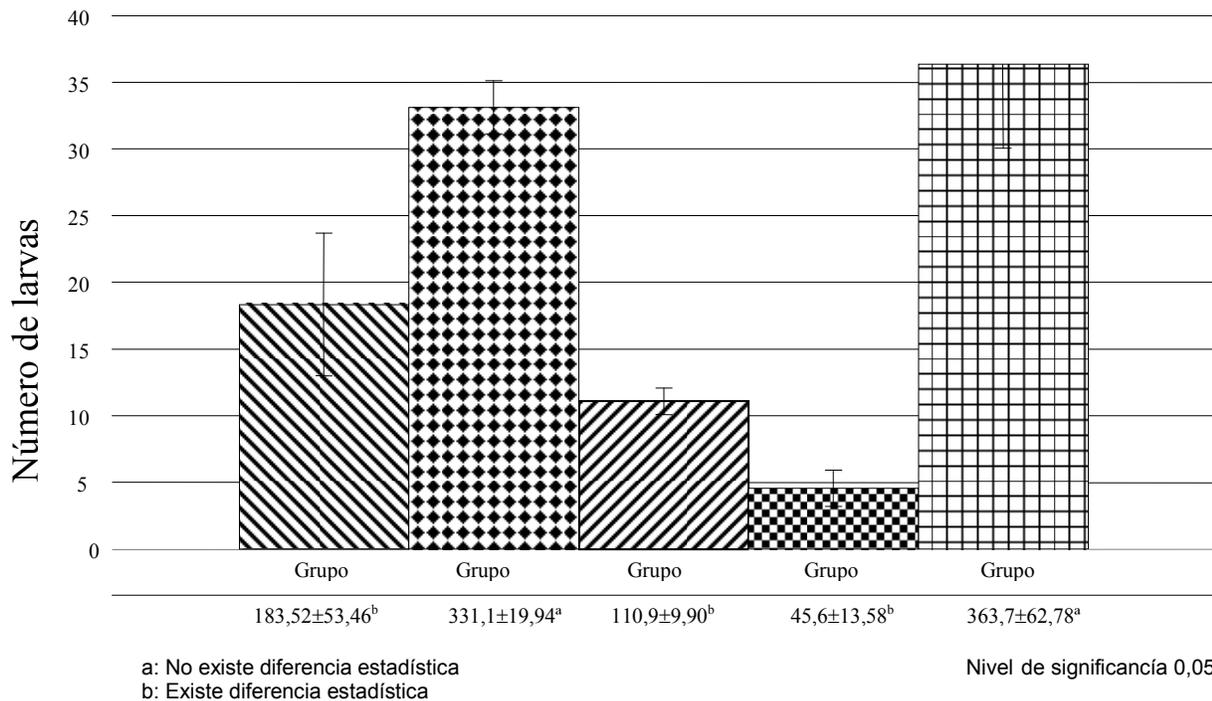
Hígado

Figura 9. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en hígado de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.



Riñón

Figura 10. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en riñón de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.



Total de larvas

Figura 11. Comparación del promedio, desviación estándar y diferencia estadística de larvas recuperadas en número el total de larvas de los grupos B al E en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i. y el grupo inoculado no tratado G.

El porcentaje de eficacia de la selamectina se estableció comparando el número de larvas recuperadas en los grupos experimentales con el grupo G. El porcentaje de efectividad se muestra en el cuadro 9 y grafica 5. La eficiencia de la selamectina va en aumento con respecto al número de tratamientos; en el caso de pulmón, hígado y riñón la eficacia va del 90 al 100%; en el cerebro se observa una eficacia del 87.31%, siendo menor con respecto al músculo que es del 99.67% y en el número total de larvas alcanzó un 94.59% de eficacia a los 4 tratamientos.

Cuadro 6. Porcentaje de eficacia de la selamectina por grupo experimental en cerebro, músculo y número total de larvas por grupo, en ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T. canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i.

Órgano	Grupo B 1 tratamiento	Grupo C 2 tratamientos	Grupo D 3 tratamientos	Grupo E 4 tratamientos
Cerebro	0%	6.01%	57.91%	87.31%
Músculo	42.49%	63%	95.29%	99.67%
Pulmón	0%	70%	100%	100%
Hígado	27.78%	50%	94.44%	100%
Riñón	0%	0%	0%	100%
Total	15.85%	39.27%	79.66%	94.59%

CAMBIOS PATOLÓGICOS PRESENTES EN PULMÓN, HÍGADO, RIÑÓN, MÚSCULO Y CEREBRO

Lesiones macroscópicas en los diferentes grupos

Las lesiones macroscópicas observadas en los 7 grupos del trabajo se resumen de la siguiente manera: presencia de cambios vasculares a nivel pulmonar, hepático y renal mientras que en algunos casos en cerebro se observaron una ligera congestión en las meninges; por otro lado se apreció la presencia de puntos blancos en la superficie de órganos como hígado y riñón. En los órganos del grupo A, se observaron petequias y con menor frecuencia algunos de estos puntos hemorrágicos llegaron a confluir. En el grupo B, los parénquimas pulmonar, hepático y renal mostraron el mismo patrón de lesiones que en el grupo A; en el caso de los cerebros se observaron con una ligera congestión. Las zonas hemorrágicas fueron disminuyendo y cambiaron a una coloración amarillenta en el grupo C en la superficie pulmonar y puntos blancos en la superficie de hígado y riñón. En los grupos D y E las lesiones fueron disminuyendo en número e intensidad, en comparación con el grupo C. En el grupo F todos los órganos se observaron sin cambios patológicos aparentes. Por último, el grupo G exhibió puntos blancos y algunos puntos hemorrágicos en pulmón, hígado y riñón; en el caso de los cerebros se observó una ligera congestión de las meninges. Los músculos de todos los grupos se observaron sin cambios patológicos aparentes.

Lesiones microscópicas en pulmones

Las lesiones microscópicas observadas a nivel pulmonar en los grupos B, C y G estuvieron conformadas principalmente por lesiones granulomatosas focales constituidas por fibroblastos, linfocitos, macrófagos, células epitelioides algunos neutrófilos y eosinófilos; en algunos casos se observaron áreas con neumonía intersticial debido al infiltrado de eosinófilos, neutrófilos y macrófagos (fig. 12); en el grupo G se observaron granulomas bien conformados con la presencia de fibras de colágena y sin la presencia de larvas en su interior o adyacentes (fig. 13); en todos los grupos inoculados con *h1Tc* se observó el aumento del tejido linfoide asociado a bronquiolos, además de macrófagos con hemosiderina dentro del parénquima y en el caso de los grupos C y D se observaron

cambios que corresponden a una neumonía intersticial con un infiltrado de macrófagos y linfocitos,.

Lesiones microscópicas en hígado

A nivel hepático en los ratones de los grupos experimentales se observaron múltiples focos de necrosis hepatocelular, infiltrado de eosinófilos, neutrófilos y macrófagos, sin la evidencia de larvas (fig. 14 y 15); este tipo de lesiones son más intensas en los primeros grupos experimentales; sin embargo, en el grupo G, además se observaron la presencia de infiltrados de polimorfonucleares con predominio de eosinófilos; mientras que en el grupo E solo se observaron áreas de necrosis.

Lesiones microscópicas en riñón

Todas las lesiones presentes en los grupos de ratones inoculados con *hlTc* se observaron en la corteza renal; como glomerulitis membranosa difusa con nefritis intersticial eosinofílica, hemorragias con infiltrados de eosinófilos y neutrófilos, fibrosis periglomerular con el engrosamiento de la cápsula de Bowman y contracción del ovillo capilar (fig. 16 y 17); así como la presencia de infiltrados intersticiales de fibras de colágena y macrófagos, donde se puede asociar a la presencia de puntos blancos en la superficie del órgano, siendo más evidentes en los 2 últimos grupos experimentales (E y D).

Lesiones microscópicas en músculo

En músculo, todos los grupos experimentales, se observaron granulomas bien conformados en el tejido conectivo con o sin la presencia de larvas en su interior (fig. 18-21); así como ligeros infiltrados de macrófagos y linfocitos entre las fibras musculares.

Lesiones microscópicas en cerebro

En este órgano en todos los grupos del experimento se observaron la presencia de larvas, las cuales se presentaron aumento de las células gliales (fig. 22 y 23); además de que se observaron algunas zonas de degeneración y en el grupo B se observaron manguitos

perivasculares. En los animales del grupo F, no se presentaron cambios patológicos aparentes.

EVALUACIÓN DE ANTIGENOS DE SECRECIÓN-EXCRECIÓN EN RATONES INOCULADOS CON *TOXOCARA CANIS* Y TRATADOS CON SELAMECTINA,

La presencia de antígenos de secreción-excreción se hizo evidente por medio de una inmunotinción o prueba inmunohistoquímica utilizando el método ABC con un suero policlonal dirigido contra los TES, el cual permitió observar la presencia de estos antígenos asociados a la superficie larvaria en cerebro y en las lesiones granulomatosas presentes a nivel muscular en músculo estriado (fig. 19-21); en sólo 2 casos se observó la presencia de los TES sin estar asociado a la presencia de una larva (fig. 20 y 21) en un granuloma en músculo estriado del grupo G y en un infiltrado intersticial granulomatoso a nivel renal en el grupo B (fig. 16 y 17); en el cuadro 10 se muestran los órganos por grupos donde se hizo evidente la presencia de TES; en el grupo F no se observaron marcas relacionadas con los TES.

Cuadro 7. Presencia de TES en órganos de ratones inoculados con 1000 huevos larvados de *T canis*, tratados con selamectina a los 67, 97, 127 y 157 d.p.i.; en el grupo control negativo F y grupo inoculado no tratado G.

Grupos	Número de tratamientos	Sacrificio d.p.i.*	Cerebro	Músculo	Pulmón	Hígado	Riñón
B	1	67	+	+	-	-	+
C	2	97	+	-	-	-	-
D	3	127	+	+	-	-	-
E	4	157	+	-	-	-	-
F	1, 2, 3 y 4	67, 97, 127 y 157	-	-	-	-	-
G	0	157	+	+	-	-	-

+: Presencia de TES

-: Ausencia de TES

*: Días post-inoculación

Fig. 12.- Corte histológico de pulmón de ratón inoculado con 1000 *h17c* sin tratamiento y sacrificado 157 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa un infiltrado focal de polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos; en esta imagen se observa también el engrosamiento de las paredes alveolares.

Fig. 13.- Corte histológico de pulmón de ratón inoculado con 1000 *h17c* sin tratamiento y sacrificado 157 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa un granuloma, pero no se observa ninguna marca de TES.

Fig. 14.- Corte histológico de hígado de ratón con 1000 *h17c* con un tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa un infiltrado.

Fig. 15.- Corte histológico de hígado de ratón con 1000 *h17c* con un tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 40X. Esta microfotografía es un acercamiento de la anterior en donde se observa a mayor detalle, donde se puede observar un infiltrado granulomatoso de polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos.

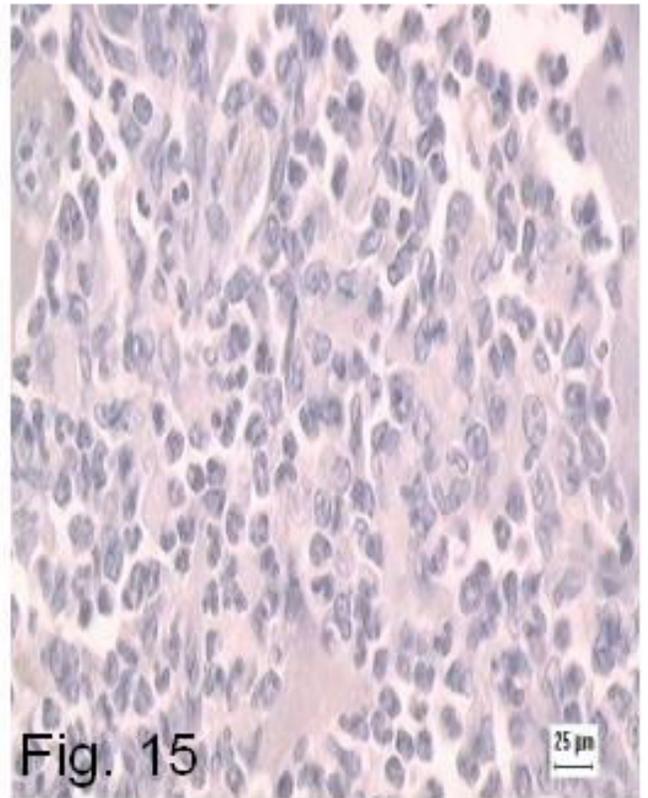
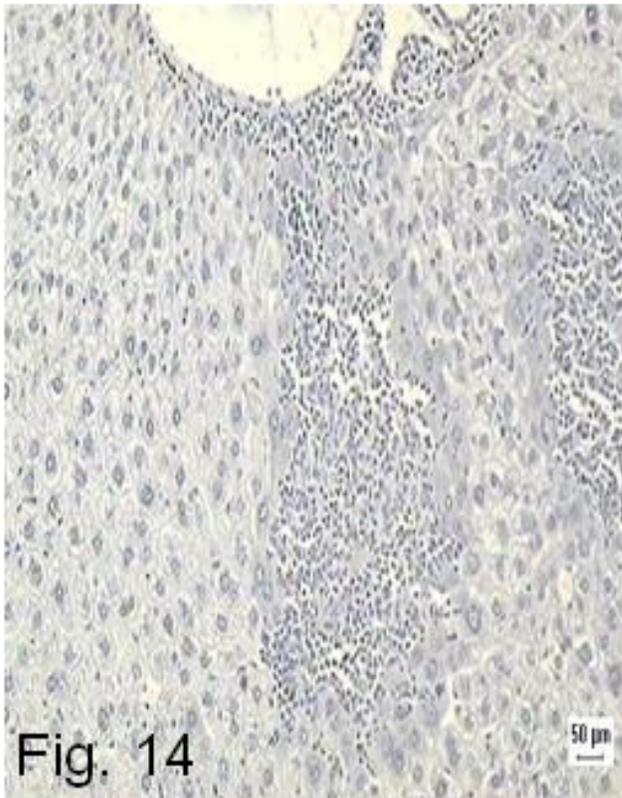
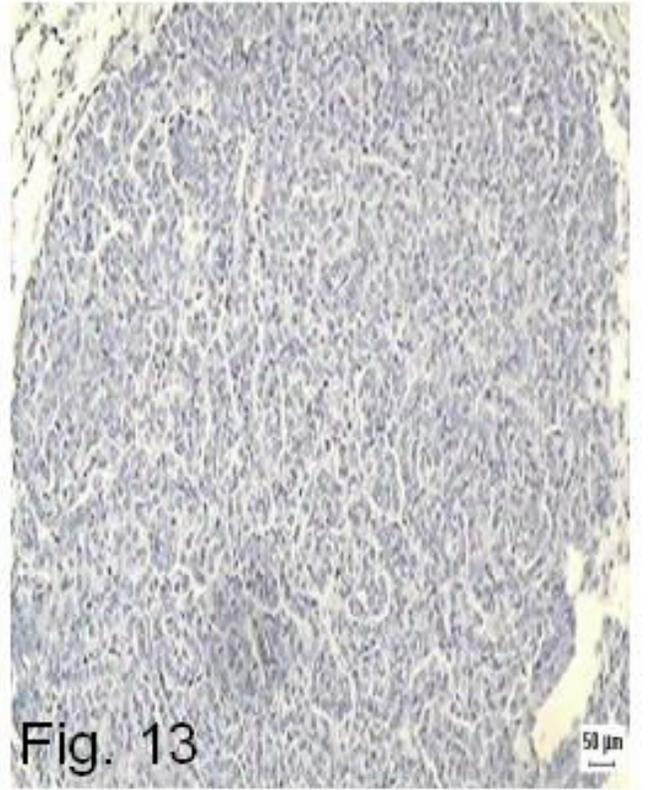
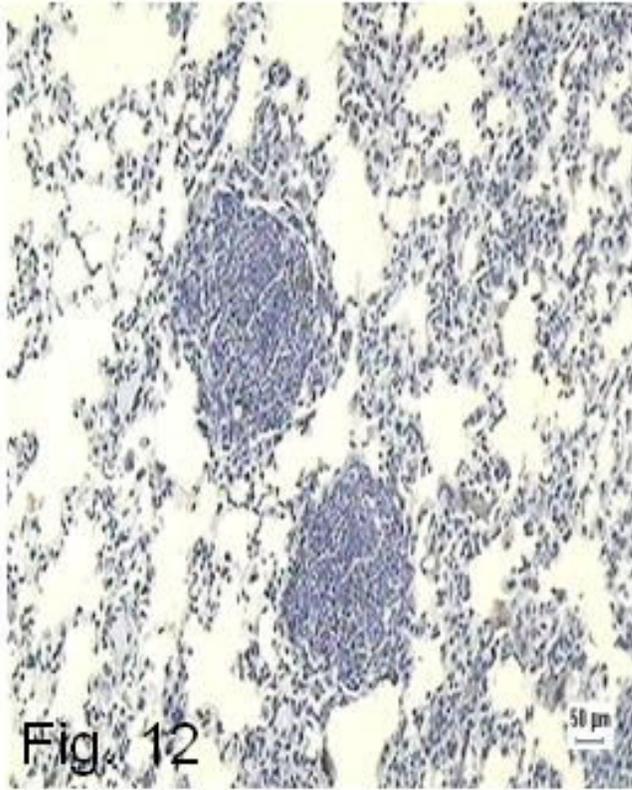


Fig. 16.- Corte histológico de riñón de ratón inoculado con 1000 hITc con 1 tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa en la corteza renal infiltrado formado de fibrocitos, polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos, en esta microfotografía la flecha señala una ligera marca de TES, en donde se observa una coloración ocre.

Fig. 17.- Corte histológico de riñón de ratón inoculado con 1000 hITc con 1 tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 40X. Esta microfotografía es un acercamiento de la anterior en donde se observa a mayor detalle, Las flechas señalan la marca de los TES.

Fig. 18.- Corte histológico de músculo esquelético de ratón inoculado con 1000 hITc con 1 tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa una lesión granulomatosa, formada de fibrocitos, linfocitos y macrófagos; al centro de esta lesión se observa una larva donde se observan los TES, esta lesión se observa en el tejido conectivo.

Fig. 19.- Corte histológico de músculo esquelético de ratón inoculado con 1000 hITc con 1 tratamiento y sacrificado 67 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Esta microfotografía es un acercamiento de la anterior en donde se observa a mayor detalle una larva donde se observan los TES.

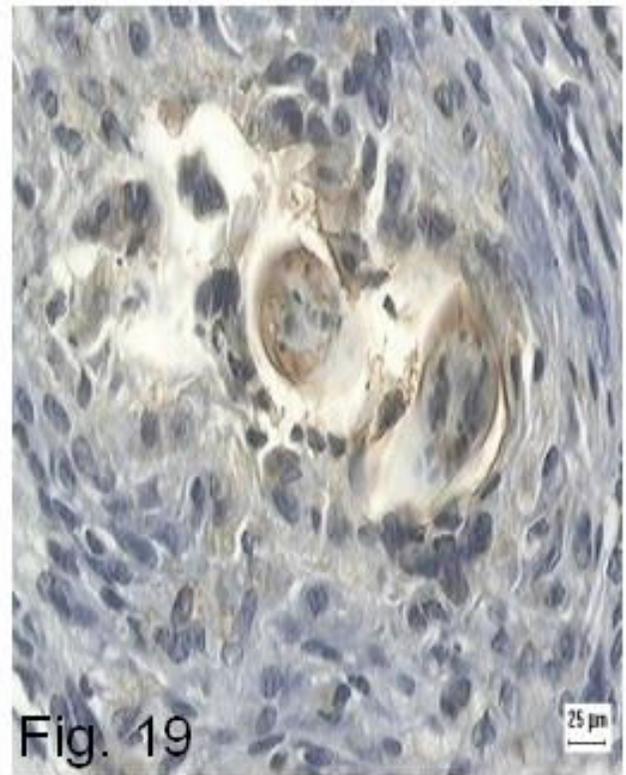
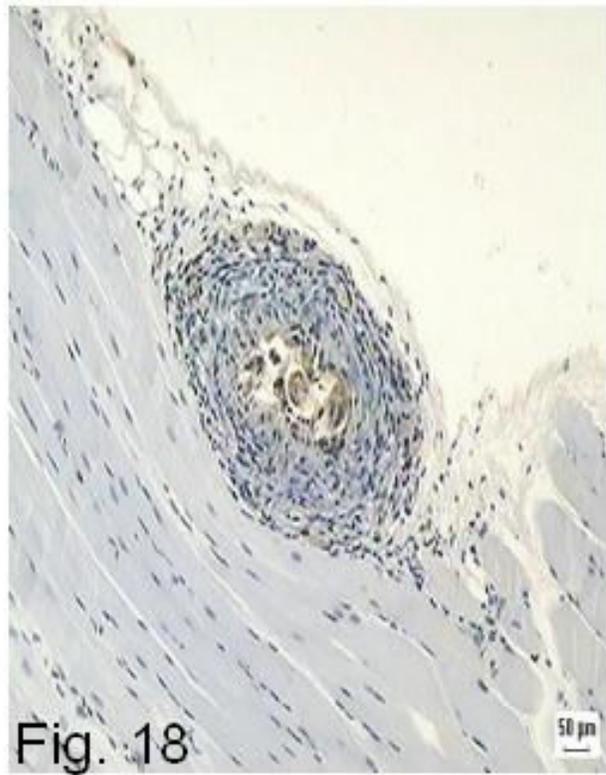
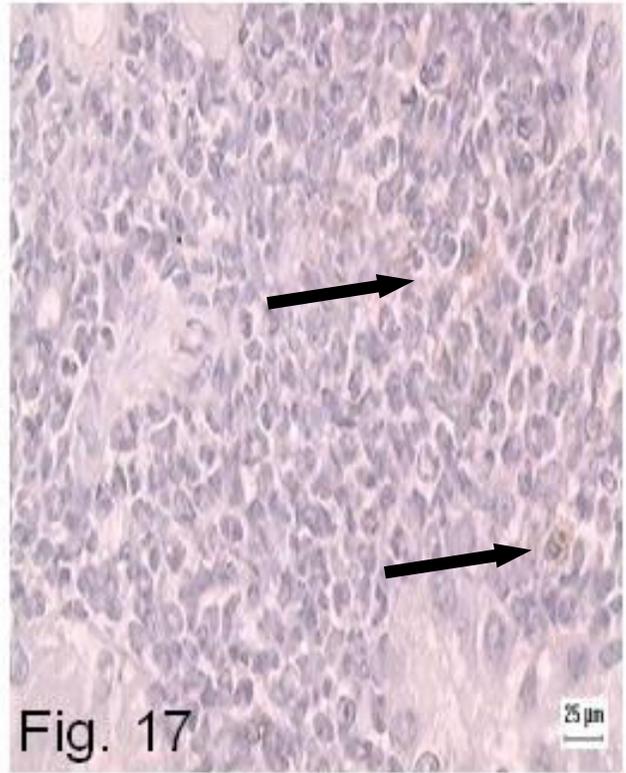
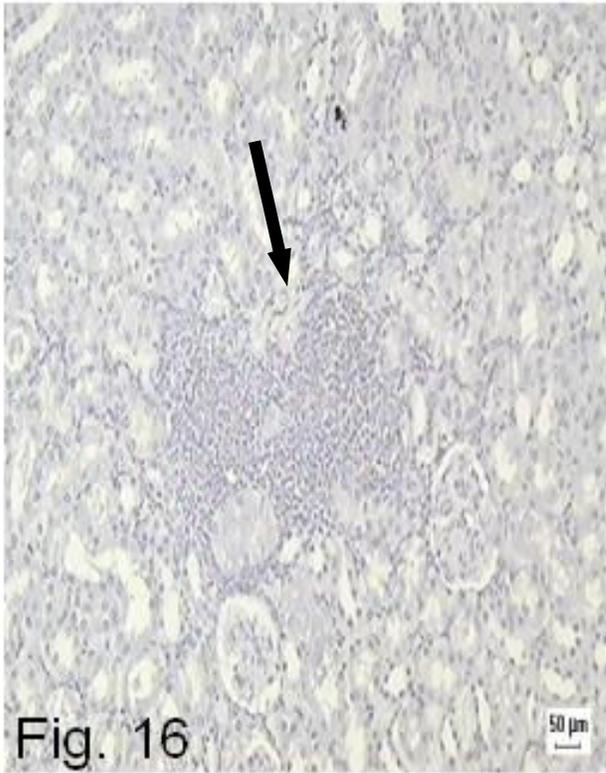
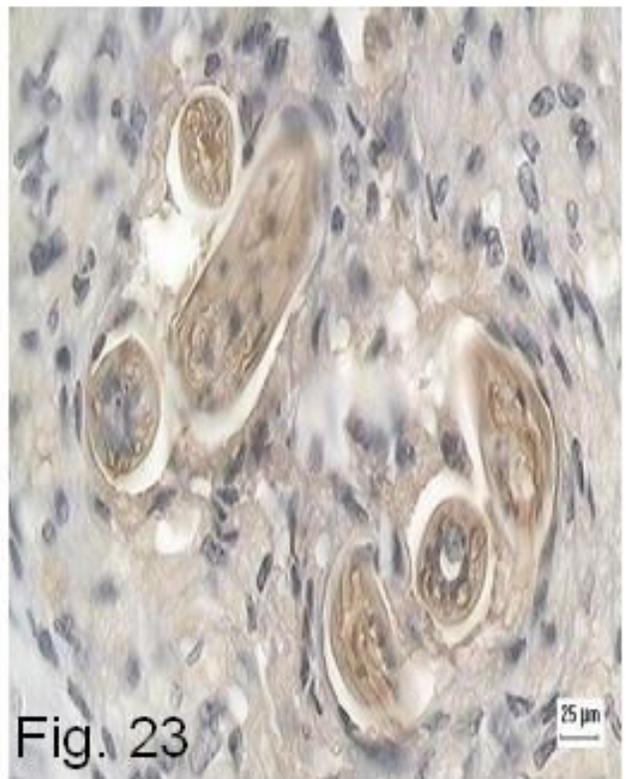
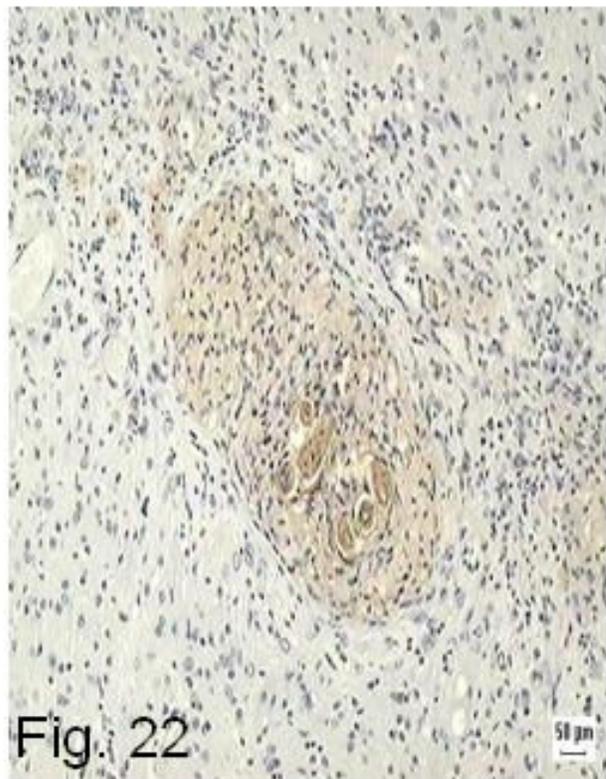
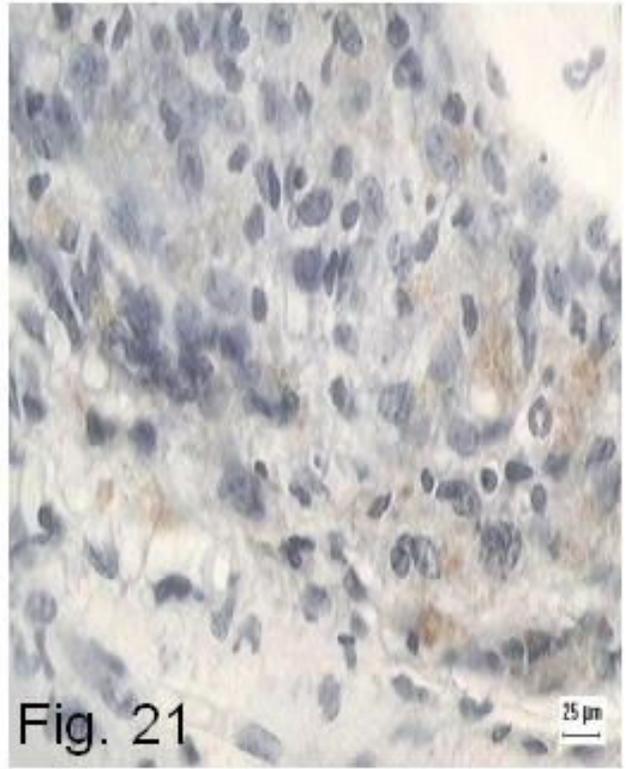
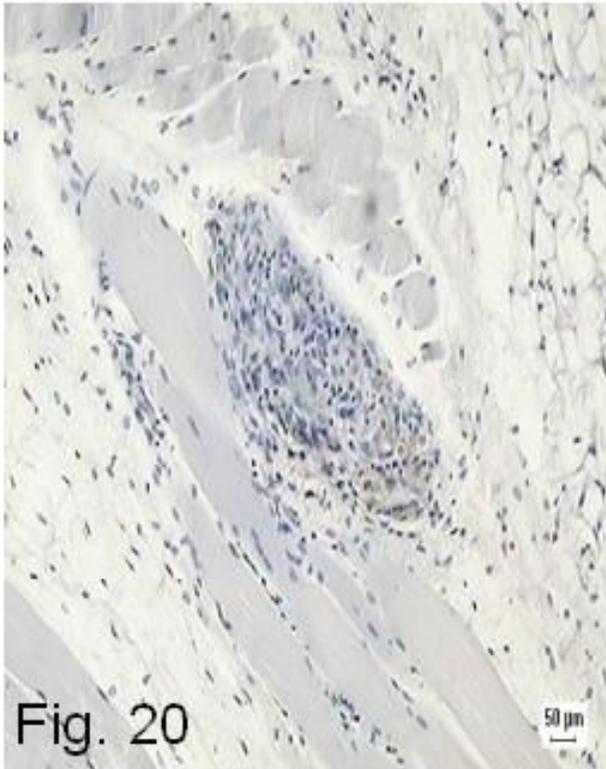


Fig. 20.- Corte histológico de músculo esquelético de ratón inoculado con 1000 h1Tc sin tratamiento y sacrificado 157 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observa una lesión granulomatosa, formada de fibrocitos, linfocitos y macrófagos; en esta lesión no se encontraron larvas, pero se distingue una marca de TES.

Fig. 21.- Corte histológico de músculo esquelético de ratón inoculado con 1000 h1Tc sin tratamiento y sacrificado 157 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 40X. Esta microfotografía es un acercamiento de la figura anterior.

Fig. 22.- Corte histológico de cerebro de ratón inoculado con 1000 h1Tc con 3 tratamientos y sacrificado 127 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 10X. Se observan larvas con proliferación de células gliales y alrededor de estas se observa la marca de los TES.

Fig. 23.- Corte histológico de cerebro de ratón inoculado con 1000 h1Tc con 3 tratamientos y sacrificado 127 d.p.i., con un proceso de ABC y teñido con hematoxilina 40X. Esta microfotografía es un acercamiento de la anterior, en donde se observan larvas con marca de los TES.



DISCUSIÓN

Desde hace tiempo se han venido realizando una gran cantidad de estudios en los que se ha intentado establecer un tratamiento eficaz contra las fases de segundo estadio de *Toxocara canis*, donde hasta el momento se ha podido establecer que el grupo de las lactonas macrocíclicas ofrecen los mejores porcentajes de eficacia sobre fármacos como los bencimidazoles, nitroscanate, imidazotiazoles y derivados fenotiacínicos (Abo-Shehada y Herbert, 1984^a; Alvarez, 1987; Samanta y Anisaris, 1990); sometiendo a los animales a uno o varios tratamientos; sin embargo, no existe una evidencia concluyente de que estos fármacos presenten un efecto larvicida pues los fármacos se han evaluado mediante la recuperación de larvas a partir de digestiones artificiales de los órganos principalmente afectados. Existe un solo trabajo realizado por Buendía en el 2000 en donde se analiza el efecto de una lactona macrocíclica y su relación con las lesiones producidas por las larvas de este parásito, sin embargo en el trabajo antes mencionado se concluyó que las lesiones histopatológicas producidas por el parásito en los animales experimentales guardaban similitudes con las presentes en los grupos testigo, de tal modo que se determinó que el tratamiento no ayudaba a mejorar la condición evolutiva de las lesiones. En el resto de los trabajos en donde se evaluó la eficacia no se ha realizado un estudio histopatológico lo que impide establecer si el tratamiento es eficaz en ese sentido, ya sea por la forma de cuantificación larvaria o bien sea efecto de la repuesta inmune. Cabe considerar que dichas lesiones son observadas debido a la migración que realizan las larvas en el parénquima de diferentes órganos, así como a la producción y liberación de antígenos de secreción y excreción; ya que como describe Kayes y col., en 1988 es suficiente la presencia de los TES para producir lesiones granulomatosas bien delimitadas. Esto hace pensar que la migración y la presencia de estos TES ya sea libres en el intersticio o asociados a las larvas son suficientes para generar las lesiones descritas en el apartado de resultados.

Debido a lo anterior, el presente trabajo analizó la naturaleza evolutiva de las lesiones producidas por la L2 de *T. canis* después de la administración de una lactona macrocíclica (selamectina) que ha mostrado tener eficacias del 94.59% a dosis de 6 mg/kg de peso vivo con repeticiones cada mes, mediante el análisis de los tejidos con la tinción de H-E para evaluar las lesiones producidas por la L2 del parásito y mediante la técnica de

inmunohistoquímica para tratar de establecer si existe una relación entre las lesiones producidas y la presencia de TES (Enríquez y Martínez, 2004).

Los resultados mostraron que la cinética de la migración larvaria a los 30 días (grupo A) es similar a la reportada por autores como: Kayes & Oaks en 1976; Abo-Shehada y col., en 1984^b; Dunsmore y col., en 1983 y Alba 1999; en donde la mayor recuperación de larvas se encontró en cerebro, músculo, hígado, pulmón y riñón; gradualmente el número de larvas recuperadas en este experimento disminuyó conforme aumentaba el número de tratamientos suministrados; en el caso del grupo inoculado no tratado (grupo G) se observó una distribución similar al grupo A, pero con un menor número de larvas recuperadas sin mostrar una diferencia estadísticamente significativa.

Smith y col., en 1953; Dunsmore y col., en 1983 y Abo-Shehada y col., en 1984^b; describieron la presencia larvas aún después de 400 d.p.i. en los tejidos de ratones, pero con una disminución en el número larvas recuperadas con respecto a los primeros días post-infestación; en donde la mayor recuperación de larvas se presentó en cerebro y músculo; esto permite establecer que, aun sin tratamiento existe una disminución en el número de larvas del 44.95% que se encuentran presentes en un organismo; muy probablemente debido a la respuesta inmune montada en contra de ellas. Si bien, solo en órganos como: cerebro, músculo y en total de larvas recuperadas se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) esto permite establecer que la selamectina a dosis de 6 mg/kg afecta a las larvas paralizando la musculatura de la faringe sin que se puedan alimentar, dando la posibilidad de desarrollar una respuesta inmune sobre las mismas, excepción del cerebro. En el cuadro 4 se observa la cinética de migración a lo largo del experimento (Gill y Lacey, 1998).

En relación a la eficacia obtenida con la selamectina, los mayores porcentajes fueron observados en los animales que recibieron 4 aplicaciones (cuadro 6) lo que permite establecer que la eficacia esta relacionada con el número de aplicaciones. Los órganos que presentaron mayores porcentajes fueron: músculo y cerebro en donde son sitios de preferencia para la larva de *T. canis*, así como el número total de larvas recuperadas, mostrando una eficacia del 99.67%, 87.31% y 94.59% respectivamente y del 100% en pulmón, hígado y riñón pero sin diferencias estadísticamente significativas; los porcentajes de eficacia obtenidos en este trabajo difieren de los reportado por Enríquez y Martínez en el

2004, en donde obtuvieron una eficacia del 95.08% en cerebro y del 100% en músculo esquelético aplicando 3 tratamientos con selamectina. Esta diferencia puede asociarse a las características de los protocolos experimentales empleados en ambos trabajos; en donde los autores antes mencionados iniciaron el tratamiento a los 30 días p.i., en comparación a los 60 días p.i., en este trabajo; además, el sacrificio lo realizaron 30 días después de cada tratamiento, mientras que en el presente trabajo el sacrificio se realizó a los 7 días de aplicado el tratamiento, lo que probablemente hace que las larvas hayan estado expuestas menor tiempo al fármaco y que en consecuencia disminuya su número. Finalmente, el número de huevos larvados de *Toxocara* utilizados por Enríquez y Martínez fueron de 500; en comparación con los 1000 hITc inoculados en este estudio, lo que incrementa la probabilidad de recuperar un mayor número de larvas que las encontradas en dicho trabajo.

Si bien la selamectina muestra una eficacia aceptable, estadísticamente solo muestra diferencias en órganos tales como cerebro, uno de los sitios de preferencia para las larvas y sitio donde pueden evadir del sistema inmune, músculo esquelético y en el total de larvas recuperadas al tercer y cuarto tratamiento (cuadro 5); no obstante, se debe tomar en cuenta que en el presente trabajo experimental solo se contabilizaron larvas de la mitad de los órganos examinados de cada animal; con lo que puede subvalorar o sobrevalorar el número de larvas recuperadas; sin embargo, se esperaba una eliminación completa de larvas al cuarto tratamiento, tomando en cuenta la eficacia descrita para la selamectina en el estudio de Enríquez y Martínez en el año 2004. En el caso del sistema nervioso central, la selamectina no alcanza a atravesar la barrera hematoencefálica; sin embargo, la disminución de larvas en dicho órgano puede deberse a dos situaciones: la primera debido a la posible redistribución de las larvas almacenadas en cerebro hacia otros tejidos extracerebrales, con la finalidad de continuar su ciclo de vida y la segunda posibilidad, es que debido a la migración de las larvas hacia el cerebro por vasos sanguíneos, estas lesionen la barrera hematoencefálica y por consecuencia la selamectina tenga algún efecto contra dichas larvas, aunque este efecto puede ser mínimo (Kayes & Oaks, 1976; Abo-Shehada y col., en 1984^b; Parsons & Grieve, 1990; Enríquez y Martínez, 2004).

Pocos trabajos han determinado el papel de los TES en la patogénesis de las lesiones en los tejidos, Entre estos trabajos se encuentra el realizado por Parsons y col., en 1986, donde se describen los patrones que presentan los depósitos de TES tanto en

infestaciones agudas como crónicas en ratones BALB/BYJ, indicando en el caso de las infestaciones agudas, un patrón que indica la migración de las larvas por hígado y cuando la infestación se torna crónica, los antígenos se observan en el centro de granulomas con o sin la presencia de larvas, en una localización extracelular. Martínez en el 2004 evaluó la correlación entre los depósitos de TES y las lesiones presentes en jerbos mongólicos (*Meriones unguiculatus*) con una infestación inducida, en donde la presencia de lesiones típicas se asoció básicamente a la presencia de antígenos con o sin larvas presentes y por último; Kayes y col., en 1988 observaron que al inocular dos sobrenadantes antigénicos obtenidos de larvas y huevos de *T. canis* en pulmones de ratones CBA/J se establecían lesiones granulomatosas delimitadas con la presencia de una gran cantidad de eosinófilos, principalmente en ratones que fueron inoculados con 25 hITc previamente, observándose granulomas similares a los provocados por las larvas; no obstante, cuando se inocularon dichos antígenos en pulmones de ratones, sin previa inoculación con hITc, se observaron lesiones granulomatosas sin la presencia de eosinófilos, lo que reafirma el rol que tienen los TES en la producción de lesiones con o sin la presencia de larvas, siendo necesaria la presencia de las larvas en los tejidos para originar granulomas eosinofílicos (Parsons y col., 1986 y Kayes y col., 1988).

Las lesiones presentes en los animales de los diferentes grupos con o sin la presencia de TES, indican la capacidad que tienen las larvas y sus antígenos para inducir las, que pueden observarse por mucho tiempo; éstas se asocian al fenómeno de recirculación de las larvas por diferentes tejidos en busca de una localización donde evadan la respuesta inmune dentro del hospedador paraténico, como ocurre en cerebro y músculo esquelético. En el caso de órganos como hígado, pulmón y riñón, las lesiones observadas en los grupos tratados con 1 ó 2 tratamientos con selamectina corresponden básicamente a una neumonía granulomatosa eosinofílica y neumonía intersticial; hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios y bronquiolos; hepatitis intersticial eosinofílica y glomerulonefritis intersticial con un infiltrado predominantemente eosinofílico; las lesiones presentes en los grupos con 3 ó 4 tratamientos en las que los infiltrados granulomatosos disminuyen en frecuencia y en intensidad con la evolución a una neumonía intersticial con macrófagos y linfocitos; en riñón un infiltrado intersticial con fibras de colágena y macrófagos, con la hipoplasia de los glomérulos y finalmente en el caso de hígado se observaron ligeros infiltrados con

macrófagos y linfocitos. En el caso del grupo inoculado no tratado se observaron en los órganos antes mencionados lesiones tanto agudas como crónicas en donde esta relacionado a la migración de las larvas y permanencia de los TES en los tejidos (Parson y col., 1986; Martínez, 2004).

En el caso de cerebro en los grupos experimentales presentó hiperplasia de la microglia asociadas a la presencia de TES o larvas y en solo dos casos en el grupo B se observaron infiltrados linfocíticos o manguitos perivasculares; con lo que respecta a músculo la presencia de granulomas se observó en los animales de los grupos B, D y G con una marca de TES en el interior del granuloma y en caso de un animal del grupo D no se observó ninguna larva en el interior del granuloma.

Page y col., en 1992^a utilizando anticuerpos monoclonales detectaron tres sitios de producción de TES en el interior de las larvas; en las glándulas del esófago y el lumen, en las células columnares del intestino y finalmente en la propia epicutícula; por lo tanto, la marca de los TES se observó sobre y dentro del cuerpo de las larvas en músculo esquelético y cerebro; además en el caso de músculo los antígenos también se observaron dentro de granulomas con y sin la presencia de larvas en su interior y en un solo caso los TES se asociaron a un proceso inflamatorio a nivel renal con un solo tratamiento con selamectina, sin que estuviera una larva presente (cuadro 7). En el resto de los órganos analizados no se observó la presencia de antígenos con o sin un tratamiento previo con selamectina; esto hace suponer que la presencia de TES esta íntimamente relacionada con la presencia de larvas en los tejidos que fueron tratados con un antihelmíntico, en donde la marca por la inmunotinción es evidente.

La evolución de las lesiones en forma de granulomas maduros esta condicionada principalmente a la presencia y liberación de los TES por parte de la larva, realizando una constante estimulación del sistema inmune; sin embargo, los antígenos que permanecen dentro de estas lesiones tienden a degradarse debido a su naturaleza glicoprotéica, siendo susceptibles a la batería de enzimas que presentan las células fagocíticas y presentadoras de antígenos; en diferentes trabajos experimentales se ha observado que la degradación de antígenos por este tipo de células varía pero que es aproximadamente de 4,3 nanomol/minuto, tomando en cuenta la naturaleza y concentración del antígeno, la degradación del mismo puede tardar de 10 minutos hasta un par de días (Amoscato y col.,

1998). Por eso cuando la larva ya no secreta o libera sus antígenos en los tejidos a consecuencia de su migración o muerte, la frecuencia de estos antígenos disminuye con el paso del tiempo, independientemente de un tratamiento; por lo tanto, las lesiones disminuyen en intensidad y frecuencia en órganos como pulmón, riñón e hígado.

Buendía en el 2000, describe que con solo un tratamiento con moxidectina no se observan diferencias en la evolución de las lesiones con diferentes días de sacrificio y tratamiento; sin embargo, cuando los animales recibieron más de un tratamiento con selamectina, es más evidente la involución de las lesiones, esto se observó al comparar las lesiones en los órganos como pulmón, riñón e hígado en los animales con 3 ó 4 tratamientos con el grupo inoculado no tratado, en donde en este último todavía son evidentes tanto lesiones agudas como crónicas a causa de que todavía existe la presencia y migraciones por parte de las larvas en estos órganos. Aunque existen granulomas en donde no son visibles los TES, puede ser por la difusión y degradación de dichos antígenos o debido al procesamiento de las muestras, ya que se pueden haber realizado cortes en la parte más externa del infiltrado inflamatorio y por consecuencia no son detectados por la técnica inmunotinción (Martínez, 2005; Amoscato y col., 1998; Parsons y col., 1986; Maizels y col., 1984).

CONCLUSIONES

- ◆ La eficacia de la selamectina al cuarto tratamiento es del 100% en órganos como riñón, hígado y pulmón; en el caso de músculo estriado y cerebro la eficacia es del 99.67% y del 87.31% respectivamente y finalmente la eficacia total es del 94.59%.
- ◆ Existe una disminución gradual en el número de larvas recuperadas al aumentar el número de tratamientos en el caso de los grupos experimentales, lo que se relaciona en la disminución e intensidad de las lesiones en comparación con el grupo inoculado no tratado.
- ◆ La frecuencia de los antígenos de secreción y excreción presentes en los tejidos, se relacionó principalmente con la presencia de larvas y en pocos casos a procesos inflamatorios como granulomas, con o sin un tratamiento previo.
- ◆ La evolución de las lesiones en forma de granulomas maduros están condicionadas principalmente a la presencia y liberación de los TES por parte de la larva, realizando una constante estimulación del sistema inmune; sin embargo, los antígenos que permanecen dentro de estas lesiones tienden a degradarse después de un largo período.
- ◆ En los animales que recibieron más de un tratamiento con selamectina, es más evidente la involución de las lesiones, principalmente en lesiones presentes en órganos como pulmón, riñón e hígado con 3 ó 4 tratamientos en comparación con el grupo inoculado no tratado.

APÉNDICE

Reactivos para inmunohistoquímica

Kit utilizado para el desarrollo de la reacción inmunohistoquímica.

Código LABS+SYS HRP, marca Dako Lab Systems con peroxidasa para marcar anticuerpos de conejo, cabra y ratón.

Es un anticuerpo marcado con estreptovidina biotina para la demostración cualitativa de antígenos en tejidos incluidos en parafina, procesados en criostato o preparaciones de células.

Los reactivos incluidos en este kit son:

1. Solución de peróxido de hidrógeno al 3%.
2. Anticuerpo secundario biotilado anti-conejo, anti-ratón, y anti-cabra en una solución salina buferada conteniendo proteína portadora y un antimicrobiano.
3. Estreptovidina peroxidasa: estreptovidina conjugada con peroxidasa de rábano en un buffer de fosfatos conteniendo proteína portadora y un antimicrobiano.
4. Sustrato buferado en solución, pH 7.5 conteniendo peróxido de hidrógeno y un preservador.
5. 3'3'Diaminobenzidina (solución cromógena).

Solución Normal de ácido clorhídrico.

30.9 ml de ácido clorhídrico.
1000 ml de agua destilada.

TRIS HCl 0.005 M pH 7.6

TRIS base 6.1g.
HCl 0.1 N 37 ml.
Agua destilada c.b.p. 1000 ml.

TBS-T

TRIS HCl (0.05 M pH 7.6) 100 ml.
Solución salina fisiológica 900 ml.
Para hacerlo TBS-T agregar 100 µl de Twin 20.

Solución de ovoalbúmina (solución bloqueadora)

A 100 ml de TBS-T agregarle la clara de un huevo y homogenizar para integrarla a ese volumen.

REFERENCIAS

1. Abo-Shehada, M. N.; Herbert, I. V. Antihelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and febendazole on larval *T canis* infection in mice. Res. Vet Sci. 1984^a;36:87-91.
2. Abo-Shehada, M. N.; Herbert, I. V. The Migration of Larval *Toxocara canis* in mice H. Post-intestinal Migrations in Primary Infections. Vet Parasitol. 1984^b;17:75-83.
3. Acha, P. N.; Szyfres; B. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a Los Animales. 3ra ed. Vol. 3. OPS. 2003.
4. Amoscato, A. A.; Prenovitz, D. A.; Lotze, M. T. Rapid Extracellular Degradation of Synthetic Class I Peptides by Human Dendritic Cells. J Immunol. 1998; 161:4023–4032.
5. Alba H. F. Parasitología Veterinaria (Manual de Laboratorio). 1^{ra} Ed. FES-Cuautitlán, UNAM. 2007.
6. Alba H. F., Tortora P. J. L., Tsutsumi V., Ortega-Pierres M. G. Histopathological investigation of experimental ocular toxocariasis in gerbils. Int J Parasitol. 2000; 30:143-147.
7. Alba, H. F. Evaluación de un modelo de toxocariasis ocular y sistémica empleando jerbos (*Meriones unguiculatus*) (tesis de doctorado). México. FES-Cuautitlán, UNAM. 1999.
8. Álvarez, I. J. Eficacia de la ivermectina sobre L2 somática de *T canis*, en ratones artificialmente infectados (tesis de licenciatura). México, FES-Cuautitlán UNAM. 1987.
9. Arango, C. *Visceral larva migrans* and the hypereosinophilia Syndrome. South Medic J. 1998;91(9):882-883.
10. Barisani-Asenbauer, T.; Maca, S. M; Hauff, W.; Kaminski, S. L; Domanovits, H.; Theyer, I.; Auer, H. Treatment of toxocariasis ocular with albendazole. J Ocul Pharmacol Ther. 2001;17(3): 287-294.
11. Bass, J. L.; Mehta, K. A. Glickman, L. T. Blocker, R.; Eppes, B. Asyntomatic toxocariasis in children. Clin Pediat. 1978;26(9):441-446.
12. Beaver, P. C. The nature of *visceral larva migrans*. J Parasitol. 1969;55(1):3-12.
13. Beaver, P. C.; Snyder, C. H.; Carrera, G. M.; Dent, J. H.; Lafferty, J. W. Chronic eosinophilia due to *visceral larva migrans*. Pediatrics. 1952;9:7-19.

14. Buendía, J. J. A. Evaluación de las lesiones histopatológicas producidas por larvas de *Toxocara canis* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) después del tratamiento con moxidectina (tesis de licenciatura). México, FES-Cuautitlán. UNAM. 2000.
15. Bishop, B. F., Bruce, C. I., Evans, N. A., Goudie, A. C., Gration, K. A. F., Gibson, S. P., *et al.* Selamectin: a novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats. *Vet Parasitol.* 2000;91:163-176.
16. Booth, N. H. *Farmacología Terapéutica Veterinaria*. vol. 2. España: Acribia. 1998.
17. Bowman, D. D. *Georgi's Parasitology for Veterinarians*. 6ta ed. U. S. A.: W. B. Saunders Company. 1995.
18. Carrillo, M. L. Evaluación de la eficacia de la dietilcarbamacina en dosis diferida sobre la larva somática de *T canis* en ratones blancos (tesis de licenciatura). México, FES-Cuautitlán. UNAM. 1985.
19. Chia-Kwung F., Yun-Ho L., Wen-Yuan D., Kua-Eyre S. Infectivity and pathogenicity of 14-month-cultured embryonated eggs of *Toxocara canis* in mice. *Vet parasitol.* 2003;113:145-155.
20. Díez, B. P.; Díez, B. P.; Morrando P. M. En *Parasitología Veterinaria*. 3rd ed. Editor Cordero, C. M. *et al.* España: Mc Graw-Hill Interamericana. 1999.
21. Densmore, J. D.; Thompson, R. C.; Bates, I. A. The accumulation of *Toxocara canis* larvae in the brains of mice. *Inter J Parasitol.* 1983;13:517-521.
22. Doedens, A.; Loukas, A.; Maizels, R. M. A cDNA encoding Tc-MUC-5, a mucin from *Toxocara canis* larvae identified by expression screening. *Act Trop* 2001; 79:211-217.
23. Enriquez, C. J. F.; Martínez, L. J. P. Evaluación de la actividad antiparasitaria de la selamectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. *AMMVEPE* 2004;15(3):103-119.
24. Ettinger, S. J. *Textbook of veterinary internal medicine (Diseases of dog and cat)*. 2nd ed. U.S.A.: Saunders Company. 1983.
25. Fernández, A. C. R.; Ortiz, R. C. G. Evaluación del tratamiento con dosis repetitivas de una asociación albendazol-ivermectina contra las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos (tesis de licenciatura). México. FES-Cuautitlán. UNAM. 2005.
26. Fok, E.; Kassai, T. *T canis* infection in the paratenic host: a study on chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. *Vet Parasitol.* 1998;74:243-259.

27. Gems, D.; Ferguson, C. J.; Robertson, B. D.; Nieves, R. Page, A. P.; Blaxter, M. L.; Maizels, R. M. An Abundant, *trans*-spliced mRNA from *Toxocara canis* infective larvae encodes a 26-kDa protein with homology to phosphatidylethanolamine-binding proteins. *J Biol Chem*. 1995;270(31):18517-18522.
28. Gems, D. y Maizels, R. M. An Abundantly expressed mucin-like protein from *Toxocara canis* infected larvae: The precursor of the larval surface coat glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93:1665-1670.
29. Gill, J. H. y Lacey, E. Avermectin/milbemycin resistance in *Trichostrongyloid* nematodes. *Inter J Parasitol* 1998; 28: 863-877.
30. Glickman, L.; Cypess, R.; Hiles, D.; Gessner, T. *Toxocara*-specific antibody in the serum and aqueous humor of a patient with presumed ocular and visceral toxocariasis. *Am J Trop Med Hyg*. 1979;28(1):29-30.
31. Glickman, L. y Shofer, F. Zoonotic *Visceral* and *Ocular Larva Migrans*. *Vet Clin N Amer S Anim Pract*. 1987;17(1):39-52.
32. González, L. C. Efecto del lopatol a diferentes dosis sobre *larva migrans visceral* de *T canis* en ratones albinos adultos, experimentalmente infectados con huevos infectantes del parásito (tesis de licenciatura). México, FES-Cuautitlán. UNAM. 1983.
33. González, P. E.; Morales, M. F. Evaluación comparativa de la actividad antiparasitaria de la ivermectina, moxidectina y doramectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* (tesis de licenciatura). México, FES-Cuautitlán. UNAM. 2002.
34. Hamilton, L. T.; Naylor, J.; Weatherley, N. A. Glomerular lesions associated with infestation with *Toxocara cati*. *Vec Rec*. 1982;3:583-584.
35. Holt, P. E.; Clarkson, M. J.; Kerslake, M. Antihelminthic test on *Toxocara canis* infection in mice. *Vet Rec*. 1981;108:308-309.
36. Jeringan, A. D.; McTier, T. L.; Chieffo, C. Thomas, C. A.; Krautmann, M. J.; Hair, J. A. et, al. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestation on dogs. *Vet Parasitol*. 2000;91:359-375.
37. Kassai, T. *Helmintología Veterinaria*. España: Acribía. 1998.
38. Kayes, S. G.; Jones, R. E.; Omholt, P. E. Pulmonary granuloma formation in murine toxocariasis: transfer of granuloma hypersensitivity using ronchoalveolar lavage cells. *J Parasitol*. 1988;74(6):950-956.

39. Kayes, S. G. y Oaks, J. A. Effect of inoculum size and length of infection on the distribución of *Toxocara canis* larvae in the mouse. Amer J Tropic Med Hyg. 1976; 25(4):573-579.
40. Loukas, A.; Doedens, A.; Hintz, M.; Maizels, R. M. Identification of a new C-type lectin, TES-70, secreted by infective larvae of *Toxocara canis*, which binds to host ligands. Parasitol. 2000;121:545-554.
41. Loukas, A. C.; Mullin, N. P.; Tetteh, K. K. A.; Moens, L.; Maizels, R. M. A novel C-type lectin secreted by a tissue-dwelling parasitic nematode. Current Biology. 1999;9:825-828.
42. López, H. E.; Mejía, L. J.; Martínez, L. J. P. Efecto de dosis repetitivas de ivermectina contra larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. AMMVEPE. 2003;14(4):117-119.
43. Lloyd, P. H. A. y Soulsby, E. J. L. Periparturient inmunosupresion in the bitch and its influence on infection with *Toxocara canis*. J Small Anim Pract. 1983; 24:237-247.
44. Magnaval, J. F.; Fabre, R.; Maurieres, P.; Charlet, J. P.; Larrard, B. Aplicacion of the Western Blotting procedures for the immunodiagnosis of human toxocariasis. Parasitol Res. 1991;77:697-702.
45. Martínez, L. J. P. Detección del deposito de antígenos de excreción-secreción de larvas somáticas de *Toxocara canis* en los tejidos de jerbos con intención inducida (tesis de maestría). México, FES-Cuautitlán. UNAM. 2004.
46. McTier, T. L.; Siedek, E. M.; Clemence, R. G.; Wrena, J. A.; Bowman, D. D.; Hellmann, K.; *et al.* Efficacy of selamectin against experimentally induced and naturally acquired ascarid (*Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*) infections in dogs. Vet Parasitol. 2000; 91:333-345.
47. Melhorn, H. Manual de Parasitología Veterinaria. U.S.A.: Grass-Iatros. 1993.
48. Meghji, M. y Maizels, R. M. Biochemical properties of larval excretory-secretory glycoproteins of the parasitic nematode *Toxocara canis*. Mol Biochem Parasitol. 1986; 18:155-170.
49. Maizels, R. M.; Tetteh, K. K. A.; Loukas, A. *Toxocara canis*: genes expressed by the arrested infective larval stage of a parasitic nematode. Inter J Parasitol. 2000;30:495-508.
50. Maizels, R. M.; Kennedy, M.W.; Meghji, M.; Robertson, B. D.; Smith, H. V. Shared carbohydrate epitopes on distinct surface and secreted antigens of the parasitic nematode *Toxocara canis*. J Immunol. 1987;139:207-214.

51. Miazels, R. M.; De Savigny, D.; Ogilvie, B. M, Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. *Parasitol Immunol.* 1984;6:26-37.
52. Mizgajska, H. Eggs of *Toxocara spp.* in the environment and their public health implications. *J Helminthol.* 2001;75(2):147-151.
53. Nadler, S. A. Phylogeny of some ascaridoid nematodes, inferred from comparison of 18S and 28S rRNA sequences. *Mol Biol Evol.* 1992;9:932-944.
54. Nelsen, S.; Greene, T. y Ernhart, C. B. *Toxocara canis* infection in preschool age children: risk factors and the cognitive development of preschool children. *Neurotoxicol Teratol.* 1996; 18(2):167-174.
55. Novotny, M. J.; Krautmann, M. J.; Ehrhart, J.C.; Godin, C. S.; Evans, E. I.; McCall, J. W.; *et al.* Safety of selamectin in dogs. *Vet Parasitol.* 2000; 91:377-391.
56. Olson, L. Ocular toxocariasis in mice: distribution of larvae and lesions. *Inter J Parasitol.* 1976;6:247-251.
57. Oshima, T. Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observation on normal migration routes of the larvae. *J Parasitol.* 1961;47:652-656.
58. Page, A. P.; Hamilton, A. J. y Maizels, R. M. *Toxocara canis*: monoclonal antibodies to carbohydrate epitopes of secreted (TES) antigens localize to different secretion-related structures in infective larvae. *Exp Parasitol.* 1992^a; 75(1):56-71.
59. Page, A. P.; Rudin, W.; Maizels, R. M. Lectin binding to secretory structures, the cuticle and the surface coat of *Toxocara canis* infective larvae. *Exp Parasitol.* 1992^b; 105:72-86.
60. Page, S. W. *Small Animal Clinical Pharmacology.* 1st ed. W. B. Saunders. England. 2002.
61. Parsons, J. C. y Grieve, R. B. Kinetics of liver trapping of infective larvae in murine toxocariasis. *J Parasitol.* 1990; 76(4):529-536.
62. Parsons, J. C.; Bowman, D.; Grieve, R. B. Tissue localization of excretory-secretory antigens of larval *Toxocara canis* in acute and chronic murine toxocariasis. *Amer J Trop Med Hyg.* 1986;35(5):974-981.
63. Pinelli, E.; Brandes, S.; Dormans, J.; Fonville, M.; Hamilton, C. M.; van der Giessen, J. *Toxocara canis*: Effect of inoculum size on pulmonary pathology and cytokine expresión in BALB/c mice. *Exp Parasitol.* 2007;115:76-82.

64. Plumb, P. C. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 5th ed. Blackwell Publishing Professional. USA. 2005.
65. Reimemeger, G. R. y Courtney, C. H. Veterinary Pharmacologys and Therapeutics. 8th ed. Editor Richars Adams. Iowa State University Press. Ame. USA. 2001.
66. Rubel, D.; Zunino, G.; Santillán, G.; Wisnivesky, C. Epidemiology of *Toxocara canis* in the dog population from two areas of different socioeconomic status, Greater Buenos Aires, Argentina. *Vet Parasitol.* 2003;115:275-286.
67. Quiroz, R. H. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. 8va ed. México: Limusa. 1988.
68. Samanta, S. y Ansani, M. Z. Anthelmintic effect to ivermectin, albendazole, febendazole y thiabendazole on larval *T canis* infection in mice. *Ind J Anim Sci.* 1990;60(10):1195-1196.
69. Schantz, P. M. y Stehr-Green, J. K. Toxocaral larva migrans, *J Amer Vet Med Assoc.* 1998;192(1):28-31.
70. Schantz, P. M.; Meyer. D. y Glickman, L. Clinical, serologic and epidemiologic characteristic of ocular Toxocariasis. *Amer J Trop Med Hyg.* 1979;28(1):24-28.
71. Schmid, G. D.; Robert, L. S. Foundations of Parasitology. 6 ed. U. S. A.: Mc Graw-Hill, 2000.
72. Smith, M.H.D. y Beaver, P.C. Persistence and Distribution of *Toxocara* Larvae in the Tissues of Children and Mice. *Pediatrics.* 1953;12:491-497.
73. Sommerfelt, I. E.; Rosa, A.; Duchene, A.; Degregorio, O.; López, C.; Pisanú, A.; De Torres, R. *Toxocara canis* in experimentally infected pigs: migratory pattern and tissue lesions. *Vet Parasitol.* 2004;125:323-334.
74. Soulsby, E. J. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7 ed. México: Interamericana. 1986.
75. Takamoto, M.; Ovigton, K. S.; Behm, C. A.; Sugane, K.; Young, I. G.; Matthaei, K. I. Eosinophilia, parasite burden and lung damage in *Toxocara canis* infection in C57B1/6 mice genetically deficient in IL-5. *Immunol.* 1997;90:511-517.
76. Tongson, M. S y Dayrit, A. M. Effect of Tetramisole on the somatic *Toxocara canis* larvae in white rats. *Phil J Vet Med.* 1973;8:53-64.
77. Velarde, O. J.; Chávez, V. A.; Casas, A. E. Contaminación de los parques públicos de la provincia constitucional del Callao con huevos de *Toxocara spp.* *Rev Inv Vet.* 1999;10(2): 42-48.

78. Walker, D. K. Fenner, K. S. A sensitive method for the measurement of the novel pet endectocide, selamectin (UK-124.114), in dog and cat plasma by chemical derivatisation and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Pharmacol Biomed Anal.* 2000;24:105-111.
79. Worley, G; Green, J. A.; Frothingham, T. E.; Sturner, R. A.; Walls, K. W.; Pakalnis, V. A.; Ellis, G. S. *Toxocara canis* Infection clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarden children. *J Infect Dis.* 1984;149(4):591-597.
80. <http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/images/>